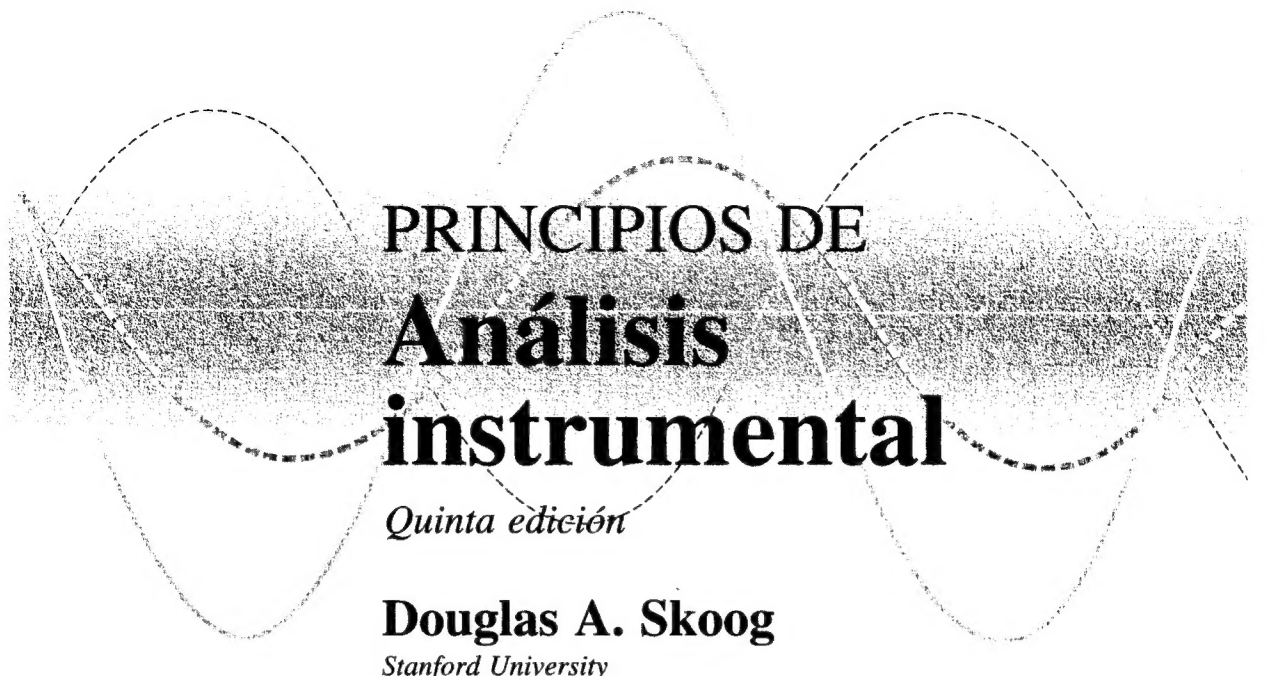


PRINCIPIOS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL

QUINTA EDICIÓN

SKOOG • HOLLER • NIEMAN

Mc
Graw
Hill



PRINCIPIOS DE **Análisis instrumental**

Quinta edición

Douglas A. Skoog

Stanford University

F. James Holler

University of Kentucky

Timothy A. Nieman

*University of Illinois
en Urbana-Champaign*

Traducción

MARÍA DEL CARMEN MARTÍN GÓMEZ

BEATRIZ LÓPEZ RUIZ

MARÍA ANTONIA MARTÍN CARMONA

GREGORIO GARCEDO GÜÉMEZ

ANA ISABEL OLIVES BARBA

Universidad Complutense de Madrid



MADRID • BUENOS AIRES • CARACAS • GUATEMALA • LISBOA • MÉXICO
NUEVA YORK • PANAMÁ • SAN JUAN • SANTAFÉ DE BOGOTÁ • SANTIAGO • SÃO PAULO
AUCKLAND • HAMBURGO • LONDRES • MILÁN • MONTREAL • NUEVA DELHI • PARÍS
SAN FRANCISCO • SIDNEY • SINGAPUR • ST. LOUIS • TOKIO • TORONTO

PRINCIPIOS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL • Quinta edición

No está permitida la reproducción total o parcial de este libro, ni su tratamiento informático, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, por fotocopia, por registro u otros métodos, sin el permiso previo y por escrito de los titulares del Copyright.

DERECHOS RESERVADOS © 2001 respecto a la quinta edición en español, por McGRAW-HILL/INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S. A. U.

Edificio Valrealty, 1.^a planta
Basauri, 17
28023 Aravaca (Madrid)

Traducido de la quinta edición en inglés de
PRINCIPLES OF INSTRUMENTAL ANALYSIS

Copyright © MCMXCVIII por Harcourt Brace & Company
Copyright © 1992, 1985, 1980, 1971 por
Saunders College Publishing
ISBN: 0-03-002078-6

ISBN: 84-481-2775-7
Depósito legal: M. 38.670-2000

Editora: Concepción Fernández Madrid
Cubierta: Juan García
Preimpresión: MonoComp, S. A.
Impreso en Edigrafos, S. A.

IMPRESO EN ESPAÑA - PRINTED IN SPAIN

Resumen del contenido

Prefacio *xxi*

Prólogo a la edición española *xxv*

Capítulo 1. Introducción *1*

SECCIÓN I. Fundamentos de la medida *21*

Capítulo 2. Componentes eléctricos y circuitos *22*

Capítulo 3. Los amplificadores operacionales en la instrumentación química *55*

Capítulo 4. Electrónica digital y microordenadores *77*

Capítulo 5. Señales y ruido *103*

SECCIÓN II. Espectroscopia atómica *121*

Capítulo 6. Introducción a los métodos espectrométricos *122*

Capítulo 7. Componentes de los instrumentos para espectroscopia óptica *151*

Capítulo 8. Introducción a la espectrometría óptica atómica *203*

Capítulo 9. Espectrometría de absorción atómica y de fluorescencia atómica *219*

Capítulo 10. Espectrometría de emisión atómica *245*

Capítulo 11. Espectrometría de masas atómica *269*

Capítulo 12. Espectrometría atómica de rayos X *291*

SECCIÓN III. Espectroscopia molecular *321*

Capítulo 13. Introducción a la espectrometría de absorción molecular ultravioleta/visible *322*

Capítulo 14. Aplicaciones de la espectrometría de absorción molecular ultravioleta/visible *353*

Capítulo 15. Espectrometría de luminiscencia molecular *381*

Capítulo 16. Espectrometría de absorción en el infrarrojo *409*

Capítulo 17. Aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo *435*

Capítulo 18. Espectroscopia Raman *463*

Capítulo 19. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear *481*

Capítulo 20. Espectrometría de masas molecular *537*

Capítulo 21. Caracterización de superficies por espectroscopia y microscopia *577*

SECCIÓN IV. Química electroanalítica *607*

Capítulo 22. Introducción a la química electroanalítica *608*

Capítulo 23. Potenciometría *639*

Capítulo 24. Culombimetría *673*

Capítulo 25. Voltamperometría *691*

SECCIÓN V. Métodos de separación *729*

Capítulo 26. Introducción a las separaciones cromatográficas *730*

Contenido

Prefacio *xxi*

Prólogo a la edición española *xxv*

Capítulo 1. Introducción *1*

1A.	CLASIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS	1
1A-1.	Métodos clásicos	1
1A-2.	Métodos instrumentales	1
1B.	TIPOS DE MÉTODOS INSTRUMENTALES	2
1C.	INSTRUMENTOS PARA EL ANÁLISIS	3
1C-1.	Dominios de los datos	3
1C-2.	Dominios no eléctricos	4
1C-3.	Dominios eléctricos	5
1C-4.	Detectores, transductores y sensores	10
1C-5.	Dispositivos de lectura	11
1C-6.	Microprocesadores y ordenadores en los instrumentos	11
1D.	SELECCIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO	11
1D-1.	Definición del problema	11
1D-2.	Características de funcionamiento de los instrumentos; parámetros de calidad	12
1E.	CALIBRACIÓN DE LOS MÉTODOS INSTRUMENTALES	16
1E-1.	Curvas de calibrado	16
1E-2.	Método de la adición estándar ...	16
1E-3.	Método del patrón interno	19
1F.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .	19

SECCIÓN I. Fundamentos de la medida *21*

Capítulo 2. Componentes eléctricos y circuitos *22*

2A.	CIRCUITOS Y MEDIDAS EN CORRIENTE CONTINUA	22
2A-1.	Leyes de la electricidad	22
2A-2.	Circuitos sencillos de corriente continua	23
2A-3.	Medidas de resistencia, tensión e intensidad en corriente continua .	26
2B.	CIRCUITOS DE CORRIENTE ALTERNA	28
2B-1.	Corrientes sinusoidales	28
2B-2.	Reactancias en circuitos eléctricos	30
2B-3.	Condensadores y capacitancia: circuitos RC en serie	31
2B-4.	Respuesta de los circuitos RC en serie a la entrada de corrientes sinusoidales	34
2B-5.	Filtros basados en circuitos RC ..	37
2B-6.	Respuesta de los circuitos RC a señales de entrada de impulsos ..	38
2B-7.	Medidas de impedancia, tensión e intensidad de corriente alterna ...	39
2C.	SEMICONDUCTORES Y DISPOSITIVOS SEMICONDUCTORES	39
2C-1.	Propiedades de los semiconductores de silicio y germanio	40
2C-2.	Diodos semiconductores	41
2C-3.	Transistores	43
2D.	FUENTES DE ALIMENTACIÓN Y REGULADORES	46
2D-1.	Transformadores	46
2D-2.	Rectificadores y filtros	46
2D-3.	Reguladores de tensión	47
2E.	DISPOSITIVOS DE LECTURA .	48
2E-1.	Osciloscopios	48
2E-2.	Registradores	49

2E-3.	Unidades de visualización alfanuméricas	51	3E-5.	Generación de logaritmos y de antilogaritmos	
2F.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .	52	3F.	APLICACIÓN DE LOS AMPLIFICADORES OPERACIONALES A LA CONMUTACIÓN	
Capítulo 3.	Los amplificadores operacionales en la instrumentación química 55		3G.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .	
3A.	PROPIEDADES DE LOS AMPLIFICADORES OPERACIONALES	55	Capítulo 4.	Electrónica digital y microordenadores 77	
3A-1.	Símbolos para los amplificadores operacionales	55	4A.	SEÑALES ANALÓGICAS Y DIGITALES	
3A-2.	Características generales de los amplificadores operacionales	56	4B.	CÓMPUTO Y CÁLCULO CON NÚMEROS BINARIOS	
3B.	CIRCUITOS CON AMPLIFICADORES OPERACIONALES	58	4B-1.	El sistema de números binarios ..	
3B-1.	Circuitos de realimentación	58	4B-2.	Conversión de números binarios y decimales	
3B-2.	Respuesta en frecuencia de un circuito con realimentación negativa	59	4B-3.	Cálculo binario	
3B-3.	El circuito seguidor de tensión ..	60	4C.	COMPONENTES BÁSICOS DE LOS CIRCUITOS DIGITALES .	
3C.	AMPLIFICACIÓN Y MEDIDA DE LAS SEÑALES DE UN TRANSDUCTOR	61	4C-1.	Convertidores de señal	
3C-1.	Medida de la intensidad	61	4C-2.	Contadores binarios	
3C-2.	Medida del potencial	63	4C-3.	Cómputo decimal	
3C-3.	Medidas de resistencia o de conductancia	63	4C-4.	Escaladores	
3C-4.	Comparación de las salidas de los transductores	65	4C-5.	Relojes	
3D.	APLICACIÓN DE LOS AMPLIFICADORES OPERACIONALES AL CONTROL DE LA TENSIÓN Y DE LA INTENSIDAD DE CORRIENTE	66	4C-6.	Convertidores digital-analógicos (DAC)	
3D-1.	Fuentes de tensión constante	66	4C-7.	Convertidores analógico-digitales (ADC)	
3D-2.	Fuentes de intensidad constante .	67	4D.	MICROPROCESADORES Y MICROORDENADORES	
3E.	APLICACIÓN DE LOS AMPLIFICADORES OPERACIONALES A OPERACIONES MATEMÁTICAS	67	4D-1.	Terminología de los ordenadores	
3E-1.	Multiplicación y división por una constante	68	4D-2.	Modalidades operacionales en los instrumentos computarizados	
3E-2.	Adición y sustracción	68	4E.	COMPONENTES DE UN ORDENADOR	
3E-3.	Integración	69	4E-1.	Unidad central de proceso (CPU)	
3E-4.	Diferenciación	69	4E-2.	Buses	
			4E-3.	Memoria	
			4E-4.	Sistemas de entrada/salida	
			4F.	SOFTWARE DE ORDENADORES	
			4F-1.	Programación	
			4F-2.	Aplicaciones de software de alto nivel	
			4G.	APLICACIONES DE ORDENADORES	
			4G-1.	Aplicaciones pasivas	

4G-2.	Aplicaciones activas	99
4H.	REDES DE ORDENADORES ..	99
4I.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .	102
Capítulo 5. Señales y ruido 103		
5A.	RELACIÓN ENTRE SEÑAL Y RUIDO	103
5B.	FUENTES DE RUIDO EN LOS ANÁLISIS INSTRUMENTALES	104
5B-1.	Ruido químico	104
5B-2.	Ruido instrumental	105
5C.	AUMENTO DE LA RELACIÓN SEÑAL/RUIDO	106
5C-1.	Algunos dispositivos de hardware para la reducción del ruido	107
5C-2.	Métodos de software	111
5D.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .	118

SECCIÓN II. Espectroscopia atómica 121

Capítulo 6. Introducción a los métodos espectrométricos 122		
6A.	PROPIEDADES GENERALES DE LA RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA	122
6B.	PROPIEDADES ONDULATORIAS DE LA RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA	123
6B-1.	Parámetros ondulatorios	123
6B-2.	El espectro electromagnético	125
6B-3.	Descripción matemática de una onda	125
6B-4.	Superposición de ondas	125
6B-5.	Difracción de la radiación	128
6B-6.	Radiación coherente	130
6B-7.	Transmisión de la radiación	131
6B-8.	Refracción de la radiación	132
6B-9.	Reflexión de la radiación	133
6B-10.	Dispersión de la radiación	134
6B-11.	Polarización de la radiación	134
6C.	PROPIEDADES MECÁNICO-CUÁNTICAS DE LA RADIACIÓN	135
6C-1.	El efecto fotoeléctrico	135
6C-2.	Estados de energía de las especies químicas	137

6C-3.	Emisión de radiación	138
6C-4.	Absorción de radiación	141
6C-5.	Procesos de relajación	144
6C-6.	El principio de incertidumbre ...	145
6D.	ASPECTOS CUANTITATIVOS DE LAS MEDIDAS ESPECTROQUÍMICAS	146
6D-1.	Métodos basados en la emisión, luminiscencia y dispersión	146
6D-2.	Métodos basados en la absorción	146
6E.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .	149
Capítulo 7. Componentes de los instrumentos para espectroscopia óptica 151		
7A.	DISEÑOS GENERALES DE INSTRUMENTOS ÓPTICOS ...	151
7B.	FUENTES DE RADIACIÓN ...	153
7B-1.	Fuentes continuas	154
7B-2.	Fuentes de líneas	155
7B-3.	Láseres	155
7C.	SELECTORES DE LONGITUD DE ONDA	163
7C-1.	Filtros	163
7C-2.	Monocromadores	165
7C-3.	Rendijas del monocromador	173
7D.	RECIPIENTES PARA LAS MUESTRAS	176
7E.	DETECTORES DE RADIACIÓN	177
7E-1.	Introducción	177
7E-2.	Detectores de fotones	178
7E-3.	Detectores de fotones multicanal	181
7E-4.	Detectores de fotoconductividad .	186
7E-5.	Detectores térmicos	186
7F.	PROCESADORES DE SEÑAL Y DISPOSITIVOS DE LECTURA .	188
7F-1.	Recuento de fotones	188
7G.	FIBRAS ÓPTICAS	189
7G-1.	Propiedades de las fibras ópticas	189
7G-2.	Sensores de fibra óptica	190
7G-3.	Fibras ópticas para diferenciar señales en función del tiempo ...	190
7H.	TIPOS DE INSTRUMENTOS ÓPTICOS	192
7I.	PRINCIPIOS DE LAS MEDIDAS ÓPTICAS DE TRANSFORMADA DE FOURIER	193

7I-1.	Ventajas inherentes de la espectrometría de transformada de Fourier	193	9D.	TÉCNICAS ANALÍTICAS DE ABSORCIÓN ATÓMICA	
7I-2.	Espectroscopia de dominio del tiempo	195	9D-1.	Preparación de la muestra	
7I-3.	Obtención de espectros en el dominio del tiempo con un interferómetro de Michelson	196	9D-2.	Disolventes orgánicos	
7J.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .	201	9D-3.	Curvas de calibrado	
Capítulo 8.	Introducción a la espectrometría óptica atómica 203		9D-4.	Método de la adición estándar ...	
8A.	ESPECTROS ÓPTICOS ATÓMICOS	203	9D-5.	Aplicaciones de la espectrometría de absorción atómica	
8A-1.	Diagramas de niveles de energía .	204	9E.	ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA ATÓMICA .	
8A-2.	Anchura de las líneas atómicas ..	207	9E-1.	Instrumentación	
8A-3.	Efecto de la temperatura en los espectros atómicos	210	9E-2.	Interferencias	
8A-4.	Espectros de bandas y continuos asociados a los espectros atómicos	211	9E-3.	Aplicaciones	
8B.	MÉTODOS DE ATOMIZACIÓN	212	9F.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .	
8C.	MÉTODOS DE INTRODUCCIÓN DE LA MUESTRA	212	Capítulo 10.	Espectrometría de emisión atómica 245	
8C-1.	Introducción de las muestras en disolución	213	10A.	ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN CON FUENTES DE PLASMA	
8C-2.	Introducción de muestras sólidas	215	10A-1.	La fuente de plasma de acoplamiento inductivo	
8D.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .	217	10A-2.	La fuente de plasma de corriente continua	
Capítulo 9.	Espectrometría de absorción atómica y de fluorescencia atómica 219		10A-3.	Espectrómetros con fuentes de plasma	
9A.	TÉCNICAS DE ATOMIZACIÓN DE LA MUESTRA	219	10A-4.	Aplicaciones de las fuentes de plasma	
9A-1.	Atomización con llama	219	10B.	ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN CON FUENTES DE ARCO Y CHISPA	
9A-2.	Atomización electrotérmica	223	10B-1.	Tipos de muestra y manipulación de la muestra	
9A-3.	Técnicas especializadas de atomización	226	10B-2.	Instrumentos para la espectroscopia con fuentes de arco y de chispa	
9B.	INSTRUMENTACIÓN PARA ABSORCIÓN ATÓMICA	227	10B-3.	Espectroscopia de emisión con fuente de arco	
9B-1.	Fuentes de radiación	227	10B-4.	Fuentes de chispa y espectros de chispa	
9B-2.	Espectrofotómetros	229	10C.	FUENTES MISCELÁNEAS PARA ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN ÓPTICA	
9C.	INTERFERENCIAS EN ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA	230	10C-1.	Fuentes de emisión de llama	
9C-1.	Interferencias espectrales	231	10C-2.	Fuentes de descarga luminiscente	
9C-2.	Interferencias químicas	234	10C-3.	Fuentes de microsonda láser	
			10D.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .	

Capítulo 11. Espectrometría de masas atómica 269

11A.	ALGUNOS ASPECTOS GENERALES DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS ATÓMICAS	269
11A-1.	Pesos atómicos en espectrometría de masas	270
11A-2.	Relación masa/carga	270
11A-3.	Tipos de espectrometría de masas atómicas	271
11B.	ESPECTRÓMETROS DE MASAS	271
11B-1.	Detectores para espectrometría de masas	272
11B-2.	Analizador de masas cuadrupolar	274
11B-3.	Analizador de masas de tiempo de vuelo	277
11B-4.	Analizadores de doble enfoque ..	278
11C.	ESPECTROMETRÍA DE MASAS CON PLASMA DE ACOPLAMIENTO INDUCTIVO	278
11C-1.	Instrumentos para ICPMS	279
11C-2.	Espectros de masas atómicos e interferencias	
11C-3.	Aplicaciones de ICPMS	283
11D.	ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE FUENTE DE CHISPA	285
11D-1.	Espectros	
11D-2.	Aplicaciones cualitativas	287
11D-3.	Aplicaciones cuantitativas	287
11E.	ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE DESCARGA LUMINISCENTE	288
11F.	ANÁLISIS ELEMENTAL DE SUPERFICIES POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS	288
11G.	CUESTIONES Y PROBLEMAS ..	288

Capítulo 12. Espectrometría atómica de rayos X 291

12A.	PRINCIPIOS FUNDAMENTALES	291
12A-1.	Emisión de rayos X	291
12A-2.	Espectros de absorción	296

12A-3.	Fluorescencia de rayos X	297
12A-4.	Difracción de rayos X	297
12B.	COMPONENTES DE LOS INSTRUMENTOS	298
12B-1.	Fuentes	299
12B-2.	Filtros de rayos X	300
12B-3.	Monocromadores para rayos X ..	300
12B-4.	Detectores de rayos X y procesadores de señal	302
12B-5.	Procesadores de señal	306
12C.	MÉTODOS DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X	308
12C-1.	Instrumentos	308
12C-2.	Análisis cualitativo y semicuantitativo	311
12C-3.	Análisis cuantitativo	311
12D.	MÉTODOS DE ABSORCIÓN DE RAYOS X	314
12E.	MÉTODOS DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X	314
12E-1.	Identificación de compuestos cristalinos	315
12E-2.	Interpretación de los diagramas de difracción	316
12F.	MICROSONDA DE ELECTRONES	317
12G.	CUESTIONES Y PROBLEMAS ..	317

SECCIÓN III. Espectroscopia molecular 321

Capítulo 13. Introducción a la espectrometría de absorción molecular ultravioleta/visible 322

13A.	MEDIDA DE LA TRANSMITANCIA Y DE LA ABSORBANCIA	322
13B.	LEY DE BEER	324
13B-1.	Aplicación de la Ley de Beer a mezclas	325
13B-2.	Limitaciones de la Ley de Beer ..	325
13C.	EFFECTO DEL RUIDO INSTRUMENTAL EN LOS ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICOS ..	329
13C-1.	Ruido instrumental como función de la transmitancia	329

13C-2.	Fuentes de ruido instrumental ...	330
13C-3.	Efecto de la anchura de la rendija en las medidas de absorbancia ..	333
13C-4.	Efecto de la radiación dispersada de longitudes de onda extremas de un instrumento	334
13D.	INSTRUMENTACIÓN	335
13D-1.	Componentes de los instrumentos	335
13D-2.	Tipos de instrumentos	337
13D-3.	Algunos instrumentos característicos	340
13E.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .	347
Capítulo 14.	Aplicaciones de la espectrometría de absorción molecular ultravioleta/visible	353
14A.	LA MAGNITUD DE LAS ABSORTIVIDADES MOLARES	353
14B.	ESPECIES ABSORBENTES	354
14B-1.	Especies absorbentes que contienen electrones π , σ y n	354
14B-2.	Absorción en la que participan los electrones d y f	359
14B-3.	Absorción por transferencia de carga	363
14C.	APLICACIÓN DE LAS MEDIDAS DE ABSORCIÓN AL ANÁLISIS CUALITATIVO	364
14C-1.	Modalidades de registro gráfico de datos espectrales	364
14C-2.	Disolventes	365
14C-3.	Detección de grupos funcionales .	365
14D.	ANÁLISIS CUANTITATIVO MEDIANTE MEDIDAS DE ABSORCIÓN	366
14D-1.	Campo de aplicación	366
14D-2.	Detalles del procedimiento	367
14D-3.	Espectrofotometría derivada y de longitud de onda dual	370
14E.	VALORACIONES FOTOMÉTRICAS	372
14E-1.	Curvas de valoración	372
14E-2.	Instrumentación	373
14E-3.	Aplicación de las valoraciones fotométricas	373
14F.	ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA	374
14F-1.	El efecto fotoacústico	374

14F-2.	Espectros fotoacústicos
14F-3.	Instrumentos
14F-4.	Aplicaciones
14G.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .
Capítulo 15.	Espectrometría de luminiscencia molecular 387
15A.	TEORÍA DE LA FLUORESCENCIA Y DE LA FOSFORESCENCIA
15A-1.	Estados excitados que producen fluorescencia y fosforescencia . . .
15A-2.	Velocidades de absorción y de emisión
15A-3.	Procesos de desactivación
15A-4.	Variables que afectan a la fluorescencia y a la fosforescencia
15A-5.	Espectros de emisión y de excitación
15B.	INSTRUMENTOS PARA LA MEDIDA DE LA FLUORESCENCIA Y DE LA FOSFORESCENCIA
15B-1.	Componentes de los fluorómetros y de los espectrofluorímetros . . .
15B-2.	Diseños de instrumentos
15B-3.	Calibrado del instrumento
15C.	APLICACIONES Y MÉTODOS FOTOLUMINISCENTES
15C-1.	Determinación fluorimétrica de especies inorgánicas
15C-2.	Determinación fluorimétrica de especies orgánicas
15C-3.	Métodos fosforimétricos
15C-4.	Aplicación de la fluorimetría y la fosforimetría para la detección en cromatografía líquida
15C-5.	Medidas de tiempos de vida . . .
15D.	QUIMIOLUMINISCENCIA . . .
15D-1.	El fenómeno de la quimioluminiscencia
15D-2.	Medida de la quimioluminiscencia
15D-3.	Aplicaciones analíticas de la quimioluminiscencia
15E.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .

Capítulo 16. Espectrometría de absorción en el infrarrojo 409

16A.	TEORÍA DE LA ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO	410
16A-1.	Introducción	410
16A-2.	Modelo mecánico de la vibración de tensión en una molécula diatómica	412
16A-3.	Tratamiento cuántico de las vibraciones	415
16A-4.	Modos de vibración	417
16A-5.	Acoplamiento vibracional	418
16B.	FUENTES Y DETECTORES DE RADIACIÓN EN EL INFRARROJO	419
16B-1.	Fuentes	419
16B-2.	Detectores de infrarrojo	420
16C.	INSTRUMENTOS DE INFRARROJO	422
16C-1.	Espectrómetros de transformada de Fourier	423
16C-2.	Instrumentos dispersivos	427
16C-3.	Instrumentos no dispersivos	429
16C-4.	Instrumentos automatizados para el análisis cuantitativo	431
16D.	CUESTIONES Y PROBLEMAS ..	432

Capítulo 17. Aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo 435

17A.	ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO	435
17A-1.	Manipulación de la muestra	436
17A-2.	Análisis cualitativo	439
17A-3.	Aplicaciones cuantitativas	446
17B.	ESPECTROMETRÍA DE REFLEXIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO	450
17B-1.	Tipos de reflexión	450
17B-2.	Espectrometría de reflectancia difusa	450
17B-3.	Espectrometría de reflectancia total atenuada	451
17C.	ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA EN EL INFRARROJO	453

17D. ESPECTROSCOPIA EN EL INFRARROJO CERCANO

17D-1.	Instrumentación	454
17D-2.	Aplicaciones de la espectrometría de absorción en el infrarrojo cercano	454
17D-3.	Aplicaciones de la espectrometría de reflectancia en el infrarrojo cercano	455
17E.	ESPECTROSCOPIA EN EL INFRARROJO LEJANO	457
17F.	ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN EN EL INFRARROJO ..	457
17G.	MICROESPECTROMETRÍA EN EL INFRARROJO	458
17H.	CUESTIONES Y PROBLEMAS ..	458

Capítulo 18. Espectroscopia Raman 463

18A.	TEORÍA DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN ..	464
18A-1.	Excitación de los espectros Raman	464
18A-2.	Mecanismo de la dispersión Raman y Rayleigh	465
18A-3.	Modelo ondulatorio de la dispersión Raman y Rayleigh ...	466
18A-4.	Intensidad de los picos Raman normales	468
18A-5.	Relación de despolarización Raman	468
18B.	INSTRUMENTACIÓN	469
18B-1.	Fuentes	469
18B-2.	Sistemas de iluminación de la muestra	470
18B-3.	Espectrómetros Raman	472
18C.	APLICACIONES DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN ..	474
18C-1.	Espectros Raman de especies inorgánicas	474
18C-2.	Espectros Raman de especies orgánicas	475
18C-3.	Aplicaciones biológicas de la espectroscopia Raman	476
18C-4.	Aplicaciones cuantitativas	476
18D.	OTROS TIPOS DE ESPECTROSCOPIA RAMAN ..	476
18D-1.	Espectroscopia Raman de resonancia	476

18D-2.	Espectroscopia Raman de superficie aumentada	478
18D-3.	Espectroscopia Raman no lineal ..	478
18E.	CUESTIONES Y PROBLEMAS ..	479
Capítulo 19.	Espectroscopia de resonancia magnética nuclear	481
19A.	TEORÍA DE LA RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR	482
19A-1.	Descripción cuántica de la RMN ..	482
19A-2.	Descripción clásica de la RMN ..	485
19A-3.	RMN de transformada de Fourier ..	489
19A-4.	Tipos de espectros RMN	493
19B.	EFECTOS DEL ENTORNO MOLECULAR EN LOS ESPECTROS RMN	494
19B-1.	Tipos de efectos del entorno	494
19B-2.	Teoría del desplazamiento químico ..	498
19B-3.	Desdoblamiento espín-espín	500
19B-4.	Técnicas de doble resonancia ...	506
19C.	ESPECTRÓMETROS DE RMN ..	506
19C-1.	Componentes de los espectrómetros de transformada de Fourier	507
19C-2.	Imanes	508
19C-3.	Sonda de la muestra	510
19C-4.	El detector y el sistema de procesamiento de los datos	511
19C-5.	Manipulación de la muestra	513
19D.	APLICACIONES DE LA RMN DE PROTÓN	514
19D-1.	Identificación de compuestos	514
19D-2.	Aplicaciones de la RMN al análisis cuantitativo	514
19E.	RMN DE CARBONO-13	517
19E-1.	Desacoplamiento del protón	518
19E-2.	Aplicación de la RMN de ^{13}C a la determinación de estructuras	520
19F.	APLICACIÓN DE LA RMN A OTROS NÚCLEOS	522
19F-1.	Fósforo-31	523
19F-2.	Flúor-19	523
19G.	RMN DE TRANSFORMADA DE FOURIER BIDIMENSIONAL	524
19H.	IMAGEN POR RESONANCIA MAGNÉTICA	525
19I.	CUESTIONES Y PROBLEMAS ..	530

Capítulo 20.	Espectrometría de masas molecular	537
20A.	ESPECTROS DE MASAS MOLECULARES	5
20B.	FUENTES DE IONES	5
20B-1.	Fuente de impacto de electrones ..	5
20B-2.	Fuentes y espectros de ionización química	5
20B-3.	Fuentes y espectros de ionización por campo	5
20B-4.	Fuentes de desorción	5
20C.	LOS ESPECTRÓMETROS DE MASAS	5
20C-1.	Descripción general de los componentes del instrumento ...	5
20C-2.	Sistemas de entrada de la muestra	5
20C-3.	Analizadores de masas	5
20C-4.	Instrumentos de transformada de Fourier (FT)	5
20C-5.	Espectrómetros de masas computarizados	5
20D.	APLICACIONES DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS MOLECULAR	5
20D-1.	Identificación de compuestos puros	5
20D-2.	Análisis de mezclas por métodos espectrales de masas acoplados ..	5
20E.	APLICACIONES CUANTITATIVAS DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS	5
20E-1.	Determinación cuantitativa de especies moleculares	5
20F.	CUESTIONES Y PROBLEMAS ..	5
Capítulo 21.	Caracterización de superficies por espectroscopia y microscopia	577
21A.	INTRODUCCIÓN AL ESTUDIO DE LAS SUPERFICIES	5
21A-1.	Definición de una superficie sólida	5
21A-2.	Tipos de medidas de superficies ..	5
21B.	MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS DE SUPERFICIES	5

21B-1.	Técnica general en espectroscopia de superficies	578
21B-2.	Espectroscopia de electrones	580
21B-3.	Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X	581
21B-4.	Espectroscopia de electrones Auger	586
21B-5.	Espectrometría de masas de ion secundario	590
21B-6.	Espectrometría de masas con microsonda de láser	591
21B-7.	Microsonda de electrones	591
21C.	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO	592
21C-1.	El microscopio electrónico de barrido (SEM)	593
21D.	MICROSCOPIOS DE SONDA DE BARRIDO	597
21D-1.	El microscopio de barrido de efecto túnel	598
21D-2.	El microscopio de fuerzas atómicas	601
21E.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .	605

SECCIÓN IV. Química electroanalítica 607

Capítulo 22.	Introducción a la química electroanalítica	608
22A.	CELDAS ELECTROQUÍMICAS .	609
22A-1.	Conducción en una celda	610
22A-2.	Estructura de la disolución; la doble capa	610
22A-3.	Corrientes faradaicas y no faradaicas	610
22A-4.	Transferencia de masa en celdas asociada al paso de corriente	611
22A-5.	Celdas galvánicas y electrolíticas .	611
22A-6.	Ánodos y cátodos	612
22A-7.	Celdas sin uniones líquidas	612
22A-8.	Representación esquemática de las celdas	612
22B.	POTENCIALES EN CELDAS ELECTROANALÍTICAS	613
22B-1.	Termodinámica de los potenciales de celda	614
22B-2.	Potenciales de unión líquida	615
22C.	POTENCIALES DE ELECTRODO	616

22C-1.	Naturaleza de los potenciales de electrodo	616
22C-2.	Electrodo estándar de hidrógeno (SHE)	617
22C-3.	Electrodos de referencia prácticos .	618
22C-4.	Definición de potencial de electrodo	618
22C-5.	Convenio de signos para los potenciales de electrodo	619
22C-6.	Efecto de la actividad en el potencial de electrodo	620
22C-7.	Potencial estándar de electrodo, E^0	620
22C-8.	Medida de los potenciales de electrodo	622
22C-9.	Cálculo de los potenciales de semi-celda a partir de valores de E^0	623
22C-10.	Potenciales de electrodo en presencia de reactivos de precipitación y formadores de complejos	624
22C-11.	Algunas limitaciones de la utilización de los potenciales estándar de electrodo	625
22D.	CÁLCULO DE LOS POTENCIALES DE CELDA A PARTIR DE LOS POTENCIALES DE ELECTRODO	627
22E.	CORRIENTES EN CELDAS ELECTROQUÍMICAS	629
22E-1.	Potencial óhmico; caída IR	629
22E-2.	Polarización	630
22E-3.	Mecanismo de transporte de masa	633
22E-4.	Polarización de transferencia de carga	633
22F.	TIPOS DE MÉTODOS ELECTROANALÍTICOS	634
22G.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .	635

Capítulo 23. Potenciometría 639

23A.	ELECTRODOS DE REFERENCIA	639
23A-1.	Electrodos de calomelanos	640
23A-2.	Electrodos de plata/cloruro de plata	641
23A-3.	Precauciones en la utilización de los electrodos de referencia	641

23B.	ELECTRODOS INDICADORES METÁLICOS	642
23B-1.	Electrodos de primera clase	642
23B-2.	Electrodos de segunda clase	643
23B-3.	Electrodos de tercera clase	643
23B-4.	Indicadores redox metálicos	644
23C.	ELECTRODOS INDICADORES DE MEMBRANA	644
23C-1.	Clasificación de las membranas	644
23C-2.	Propiedades de las membranas selectivas de iones	645
23C-3.	El electrodo de vidrio para medidas de pH	645
23C-4.	Electrodos de vidrio para otros cationes	651
23C-5.	Electrodos de membrana cristalina	651
23C-6.	Electrodos de membrana líquida	652
23D.	TRANSISTORES DE EFECTO DE CAMPO SELECTIVOS DE IONES (ISFET)	654
23D-1.	Mecanismo del comportamiento selectivo de iones del ISFET	655
23D-2.	Aplicaciones de los ISFET	656
23E.	ELECTRODOS SENSIBLES A MOLÉCULAS	656
23E-1.	Sondas sensibles a gases	656
23E-2.	Electrodos de membrana biocatalítica	658
23E-3.	Sistemas multicapa de plom desechables	660
23F.	INSTRUMENTOS PARA MEDIR LOS POTENCIALES DE CELDA	660
23F-1.	Instrumentos de lectura directa	661
23F-2.	Instrumentos comerciales	661
23G.	MEDIDAS POTENCIOMÉTRICAS DIRECTAS	662
23G-1.	Convenio de signos y ecuaciones para la potenciometría directa	662
23G-2.	Método de calibración del electrodo	663
23G-3.	Curvas de calibración para las medidas de la concentración	665
23G-4.	Método de la adición estándar	665
23G-5.	Medidas potenciométricas de pH con el electrodo de vidrio	665

23H.	VALORACIONES POTENCIOMÉTRICAS
23I.	CUESTIONES Y PROBLEMAS

Capítulo 24. Culombimetría 673

24A.	RELACIONES INTENSIDAD-POTENCIAL DURANTE LA ELECTRÓLISIS
24A-1.	Funcionamiento de una celda a un potencial aplicado fijo
24A-2.	Electrólisis a intensidad constante
24A-3.	Electrólisis a potenciales del electrodo de trabajo constantes
24B.	INTRODUCCIÓN A LOS MÉTODOS CULOMBIMÉTRICOS DE ANÁLISIS
24B-1.	Unidades de la cantidad de electricidad
24B-2.	Tipos de métodos culombimétricos
24C.	CULOMBIMETRÍA POTENCIOSTÁTICA
24C-1.	Instrumentación
24C-2.	Aplicaciones
24D.	VALORACIONES CULOMBIMÉTRICAS (CULOMBIMETRÍA AMPEROSTÁTICA)
24D-1.	Aparatos eléctricos
24D-2.	Aplicaciones de las valoraciones culombimétricas
24D-3.	Valoraciones culombimétricas automáticas
24E.	CUESTIONES Y PROBLEMAS

Capítulo 25. Voltamperometría 691

25A.	SEÑALES DE EXCITACIÓN EN VOLTAMPEROMETRÍA
25B.	INSTRUMENTACIÓN EN VOLTAMPEROMETRÍA
25B-1.	Microelectrodos
25B-2.	Voltamperogramas
25C.	VOLTAMPEROMETRÍA HIDRODINÁMICA

25C-1.	Perfiles de concentración en las superficies de los microelectrodos durante la electrólisis	698	26C.	ENSANCHAMIENTO DE BANDA Y EFICACIA DE LA COLUMNA	737
25C-2.	Corrientes voltamperométricas ..	701	26C-1.	Las formas de los picos cromatográficos	737
25C-3.	Ondas del oxígeno	703	26C-2.	Métodos para describir la eficacia de la columna	738
25C-4.	Aplicaciones de la voltamperometría hidrodinámica ..	704	26C-3.	Variables cinéticas que influyen en el ensanchamiento de banda ..	740
25D.	VOLTAMPEROMETRÍA CÍCLICA	708	26D.	OPTIMIZACIÓN DE LA EFICACIA DE LA COLUMNA ..	744
25E.	POLAROGRAFÍA	710	26D-1.	Resolución de la columna	745
25E-1.	Polarografía de barrido lineal ...	710	26D-2.	Influencia de los factores de retención y selectividad sobre la resolución	746
25E-2.	Métodos polarográficos y voltamperométricos de impulsos ..	715	26D-3.	Efecto de la resolución sobre el tiempo de retención	746
25E-3.	Aplicaciones de la polarografía ..	719	26D-4.	Variables que afectan a la eficacia de la columna	747
25F.	MÉTODOS DE REDISOLUCIÓN	721	26D-5.	El problema general de la elución ..	750
25F-1.	Etapas de electrodeposición	722	26E.	RESUMEN DE LAS ECUACIONES DE INTERÉS EN CROMATOGRAFÍA	751
25F-2.	Etapas voltamperométricas del análisis	722	26F.	APLICACIONES DE LA CROMATOGRAFÍA	751
25F-3.	Métodos de redisolución adsorbtivos	723	26F-1.	Análisis cualitativo	751
25G.	VOLTAMPEROMETRÍA CON ULTRAMICROELECTRODOS ..	723	26F-2.	Análisis cuantitativo	753
25H.	CUESTIONES Y PROBLEMAS ..	725	26G.	CUESTIONES Y PROBLEMAS ..	755
SECCIÓN V. Métodos de separación 729			Capítulo 27. Cromatografía de gases 759		
Capítulo 26. Introducción a las separaciones cromatográficas 730			27A. PRINCIPIOS DE LA CROMATOGRAFÍA GAS-LÍQUIDO		
26A.	DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA CROMATOGRAFÍA	731	27A-1.	Volúmenes de retención	760
26A-1.	Clasificación de los métodos cromatográficos	731	27A-2.	Relación entre V_g y K	760
26A-2.	Cromatografía de elución en columna	731	27A-3.	Efecto del caudal de fase móvil ..	761
26B.	VELOCIDADES DE MIGRACIÓN DE LOS SOLUTOS	734	27B.	INSTRUMENTOS PARA LA CROMATOGRAFÍA GAS-LÍQUIDO	761
26B-1.	Constantes de distribución	734	27B-1.	Gas portador	761
26B-2.	Tiempo de retención	735	27B-2.	Sistema de inyección de muestra ..	762
26B-3.	Relación entre el tiempo de retención y el coeficiente de distribución	735	27B-3.	Configuración de la columna y del horno para la columna	763
26B-4.	La velocidad de migración del soluto: el factor de retención	736	27B-4.	Sistemas de detección	765
26B-5.	Velocidades de migración relativas: el factor de selectividad	736	27C.	COLUMNAS Y FASES ESTACIONARIAS PARA CROMATOGRAFÍA DE GASES ..	770
			27C-1.	Columnas abiertas	770

27C-2.	Columnas rellenas	771
27C-3.	Adsorción sobre los rellenos de la columna o las paredes del capilar ..	772
27C-4.	Fase estacionaria	773
27D.	APLICACIONES DE LA CROMATOGRAFÍA GAS-LÍQUIDO (GLC)	776
27D-1.	Análisis cualitativo	776
27D-2.	Análisis cuantitativo	777
27D-3.	Acoplamiento de la cromatografía de gases con métodos espectroscópicos	777
27E.	CROMATOGRAFÍA GAS-SÓLIDO	781
27E-1.	Tamices moleculares	781
27E-2.	Polímetros porosos	782
27F.	CUESTIONES Y PROBLEMAS ..	782
Capítulo 28.	Cromatografía de líquidos de alta eficacia ..	785
28A.	CAMPO DE APLICACIÓN DE LA HPLC	786
28B.	EFICACIA DE LA COLUMNA EN LA CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS	787
28B-1.	Efectos del tamaño de partícula del relleno	787
28B-2.	Ensanchamiento de banda extracolumna en cromatografía de líquidos	787
28B-3.	Efecto del tamaño de muestra en la eficacia de la columna	788
28C.	INSTRUMENTACIÓN PARA CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS	788
28C-1.	Recipientes para la fase móvil y sistemas para el tratamiento de los disolventes	789
28C-2.	Sistemas de bombeo	790
28C-3.	Sistemas de inyección de muestra ..	791
28C-4.	Columnas para cromatografía de líquidos	792
28C-5.	Tipos de rellenos de la columna ..	793
28C-6.	Detectores	793
28D.	CROMATOGRAFÍA DE REPARTO	800
28D-1.	Columnas para cromatografía de fase unida químicamente	800

28D-2.	Establecimiento del método en cromatografía de reparto
28D-3.	Aplicaciones de la cromatografía de reparto
28E.	CROMATOGRAFÍA DE ADSORCIÓN
28E-1.	Selección del disolvente en cromatografía de adsorción
28E-2.	Aplicaciones de la cromatografía de adsorción
28F.	CROMATOGRAFÍA IÓNICA ..
28F-1.	Equilibrios de intercambio iónico ..
28F-2.	Rellenos de intercambio iónico ..
28F-3.	Aplicaciones inorgánicas de la cromatografía iónica
28F-4.	Aplicaciones orgánicas y bioquímicas de la cromatografía iónica
28F-5.	Cromatografía de exclusión de iones
28G.	CROMATOGRAFÍA DE EXCLUSIÓN POR TAMAÑO ..
28G-1.	Rellenos de columna
28G-2.	Teoría de la cromatografía de exclusión por tamaño
28G-3.	Aplicación de la cromatografía de exclusión por tamaño
28H.	CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA
28H-1.	Campo de aplicación de la cromatografía en capa fina
28H-2.	Cómo se realizan las separaciones en capa fina
28H-3.	Características de eficacia de las placas de capa fina
28H-4.	Aplicaciones de la cromatografía en capa fina
28I.	CUESTIONES Y PROBLEMAS ..
Capítulo 29.	Cromatografía y extracción con fluidos supercríticos ..
29A.	PROPIEDADES DE LOS FLUIDOS SUPERCRTICOS ...
29B.	CROMATOGRAFÍA DE FLUIDOS SUPERCRTICOS ...
29B-1.	Instrumentación y variables de operación

29B-2.	Comparación de la cromatografía de fluidos supercríticos con otros tipos de cromatografía	834
29B-3.	Aplicaciones	836
29C.	EXTRACCIÓN CON FLUIDOS SUPERCRÍTICOS	837
29C-1.	Ventajas de la extracción con fluidos supercríticos	838
29C-2.	Instrumentación	838
29C-3.	La elección de fluido supercrítico	839
29C-4.	Extracciones independientes y en línea	840
29C-5.	Aplicaciones relevantes de la SFE	840
29D.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .	841
Capítulo 30.	Electroforesis capilar y electrocromatografía	843
30A.	PANORÁMICA DE LA ELECTROFORESIS	844
30A-1.	Tipos de electroforesis	844
30A-2.	Fundamento de las separaciones electroforéticas	845
30B.	ELECTROFORESIS CAPILAR .	845
30B-1.	Velocidades de migración y alturas de plato en electroforesis capilar	845
30B-2.	Alturas de plato en electroforesis capilar	846
30B-3.	Flujo electroosmótico	846
30B-4.	Instrumentación en electroforesis capilar	848
30C.	APLICACIONES DE LA ELECTROFORESIS CAPILAR	852
30C-1.	Electroforesis capilar de zona ...	852
30C-2.	Electroforesis capilar en gel	854
30C-3.	Isotacoforesis capilar	855
30C-4.	Isoelectroenfoque capilar	856
30D.	ELECTROCROMATOGRAFÍA CAPILAR	858
30D-1.	Electrocromatografía en columna rellena	859
30D-2.	Cromatografía capilar electrocinética micelar	860
30E.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .	862

SECCIÓN VI. Miscelánea de métodos 863

Capítulo 31. Métodos térmicos 864

31A.	MÉTODOS TERMOGRAVIMÉTRICOS (TG)	864
31A-1.	Instrumentación	864
31A-2.	Aplicaciones	866
31B.	ANÁLISIS TÉRMICO DIFERENCIAL (DTA)	867
31B-1.	Instrumentación	867
31B-2.	Principios generales	868
31B-3.	Aplicaciones	869
31C.	CALORIMETRÍA DE BARRIDO DIFERENCIAL (DSC)	870
31C-1.	Instrumentación	871
31C-2.	Aplicaciones	873
31D.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .	874

Capítulo 32. Métodos radioquímicos 877

32A.	ISÓTOPOS RADIATIVOS	877
32A-1.	Productos de desintegración radiactiva	878
32A-2.	Procesos de desintegración	878
32A-3.	Velocidades de desintegración radiactiva	880
32A-4.	Estadística del recuento	881
32B.	INSTRUMENTACIÓN	885
32B-1.	Medida de partículas alfa	885
32B-2.	Medida de partículas beta	885
32B-3.	Medida de la radiación gamma ..	885
32C.	MÉTODOS DE ACTIVACIÓN NEUTRÓNICA	885
32C-1.	Neutrones y fuentes de neutrones	887
32C-2.	Interacciones de los neutrones con la materia	888
32C-3.	Teoría de los métodos de activación	888
32C-4.	Consideraciones experimentales en los métodos de activación	889
32C-5.	Aplicación de la activación neutrónica	891
32D.	MÉTODOS DE DILUCIÓN ISOTÓPICA	893
32D-1.	Fundamentos del procedimiento de dilución isotópica	893

32D-2.	Aplicación del método de dilución isotópica	893
32E.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .	894
Capítulo 33.	Métodos automatizados de análisis	897
33A.	VISIÓN GENERAL DE LOS EQUIPOS AUTOMÁTICOS E INSTRUMENTACIÓN	897
33A-1.	Ventajas y limitaciones de los análisis automáticos	898
33A-2.	Operaciones unitarias en análisis químico	898
33A-3.	Tipos de sistemas analíticos automáticos	898
33B.	ANÁLISIS POR INYECCIÓN EN FLUJO	899
33B-1.	Instrumentación	900
33B-2.	Fundamento del análisis por inyección en flujo	903
33B-3.	Aplicaciones del análisis por inyección en flujo	904
33B-4.	Un sistema automatizado para controlar las concentraciones de mercurio	907
33C.	SISTEMAS AUTOMÁTICOS DISCONTINUOS	909
33C-1.	Muestreo automático y definición de la muestra en líquidos y gases .	909
33C-2.	Robótica	910
33C-3.	El analizador centrífugo	912
33C-4.	Analizadores elementales orgánicos automáticos	912
33D.	ANÁLISIS CON TIRAS REACTIVAS MULTICAPAS ...	914
33D-1.	Fundamento general	914
33D-2.	Estructura de las tiras	914
33D-3.	Instrumentación	915
33D-4.	Funcionamiento y aplicaciones ..	916
33E.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .	918
Apéndice 1.	Evaluación de los datos analíticos	919

a1A.	PRECISIÓN
a1A-1.	Precisión
a1A-2.	Exactitud
a1B.	TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS ERRORES ALEATORIOS
a1B-1.	Poblaciones y muestras
a1B-2.	Límites de confianza (LC)
a1B-3.	Prueba del sesgo
a1B-4.	Propagación de la incertidumbre de las medidas
a1B-5.	Redondeo de los resultados de los cálculos matemáticos
a1C.	MÉTODOS DE MÍNIMOS CUADRADOS
a1D.	CUESTIONES Y PROBLEMAS .

Apéndice 2. Coeficientes de actividad 94

a2A.	PROPIEDADES DE LOS COEFICIENTES DE ACTIVIDAD
a2B.	EVALUACIÓN EXPERIMENTAL DE LOS COEFICIENTES DE ACTIVIDAD
a2C.	LA ECUACIÓN DE DEBYE-HÜCKEL

Apéndice 3. Algunos potenciales estándar formales de electrodo 949

Apéndice 4. Compuestos recomendados para preparación de disoluciones p de algunos elementos comunes 953

Apéndice 5. Acrónimos y abreviaturas significativas en Química analítica 955

Respuestas a los problemas seleccionados

Tablas 993

Índice 997

Prefacio

Los ingenieros y los científicos disponen de una serie impresionante de poderosas y selectivas herramientas en el campo de la Biología y de la Física, para obtener información cualitativa y cuantitativa acerca de la composición y estructura de la materia. Los estudiantes de Química, Bioquímica, Física, Geología, Ciencias de la salud, Ingeniería y Ciencias medioambientales deben desarrollar un conocimiento de dichas herramientas y de cómo han de utilizarse para la resolución de los problemas analíticos. Es a ellos a quienes va dirigido este libro.

En opinión de los autores, la correcta elección y el buen uso de los instrumentos analíticos modernos requiere la comprensión de los principios fundamentales en los que se basan estos sistemas de medida. Sólo así se puede elegir de forma adecuada entre las distintas alternativas para resolver un problema analítico; sólo así se podrán valorar las dificultades inherentes a las medidas físicas y establecer un criterio respecto a las limitaciones de las medidas instrumentales en cuanto a la sensibilidad, precisión y exactitud. Con esta idea, el objetivo de este texto es proporcionar al estudiante una introducción a los principios de los métodos de análisis espectroscópicos, electroanalíticos y cromatográficos. Con un estudio detallado y completo de este texto, el estudiante descubrirá los tipos de instrumentos actualmente disponibles, así como sus ventajas y limitaciones.

ESTRUCTURACIÓN DE LA QUINTA EDICIÓN

Los usuarios de las ediciones anteriores de este texto observarán que esta última está organizada casi de la misma manera que las precedentes. Después de un breve capítulo de introducción, que ahora incluye un apartado sobre la calibración, el libro se ha dividido en seis grandes secciones:

- La Sección I comprende cuatro capítulos sobre los fundamentos de los circuitos electrónicos, los amplificadores operacionales, la electrónica digital y los ordenadores, las señales, el ruido, las técnicas de tratamiento de datos y los parámetros de calidad.
- La Sección II comprende siete capítulos dedicados a las diferentes ramas de la espectroscopia atómica, incluyendo la espectrometría óptica de absorción, de emisión y de fluorescencia, la espectrometría de masas atómica y la espectrometría de rayos X atómica.
- La Sección III trata la espectroscopia molecular en nueve capítulos dedicados a la absorción, la emisión, la luminiscencia, el infrarrojo, el Raman, la resonancia magnética nuclear y la espectrometría de masas. Esta sección concluye con un capítulo que trata las técnicas espectroscópicas y microscópicas para la caracterización de superficies.
- La Sección IV contiene cuatro capítulos sobre técnicas de Química electroanalítica, incluyendo la potenciometría, la coulombimetría y la voltamperometría.
- La Sección V consta de cinco capítulos donde se estudian los distintos tipos de cromatografía y electroforesis.
- La Sección VI consta de tres capítulos que estudian una miscelánea de métodos instrumentales que trata de dar solución a problemas analíticos. Dichos capítulos versan sobre los métodos térmicos, radioquímicos y automáticos.

Desde la aparición de la primera edición de este texto en 1971, el campo del análisis instrumental ha crecido tanto y de un modo tan diverso que es imposible el tratamiento de todas las técnicas instrumentales modernas en análisis químico en uno o incluso dos cursos semestrales. Además, existen diversas opiniones entre los profesores respecto de qué métodos deben tratarse y cuáles

no. Por ello, se ha incluido en este texto mucho más material del que puede explicarse en un solo curso básico de análisis instrumental, pero se ha organizado su contenido de forma que los profesores puedan elegir los temas a estudiar. Al igual que en la cuarta edición, unos capítulos de introducción a la espectroscopia óptica, a la química electroanalítica y a la cromatografía preceden a los capítulos relacionados con los métodos específicos de cada tipo. Cuando los estudiantes dominan estos capítulos de introducción, se le puede asignar un orden cualquiera a los siguientes capítulos.

NOVEDADES DE LA QUINTA EDICIÓN

- Un capítulo nuevo de electroforesis capilar (Capítulo 30).
- Un capítulo nuevo relativo a la extracción y a la cromatografía de fluidos supercríticos (Capítulo 29).
- Un nuevo capítulo sobre la espectrometría de masas atómica (Capítulo 11).
- Una adenda en el capítulo de análisis de superficies que estudia la microscopia de barrido por efecto túnel y la microscopia atómica de fuerzas (Capítulo 21).
- Un apartado muy ampliado y reestructurado sobre los métodos de atomización en espectrometría atómica (Capítulo 8).
- Una descripción del efecto piezoeléctrico y de la microbalanza de cristal de cuarzo (Capítulo 1).
- Una introducción al concepto de los dominios de los datos (Capítulo 1).
- Una discusión revisada y actualizada de la ecuación de van Deemter (Capítulo 26).
- Un nuevo apartado sobre imagen por resonancia magnética (Capítulo 19).
- Un estudio de algunas aplicaciones del software que son útiles para el analista (Capítulo 4).
- Tablas de datos fisicoquímicos revisados y actualizados (Apéndice 3 y páginas 993 a 996).
- Una extensa relación de acrónimos y abreviaturas, que se utilizan en Química analítica (Apéndice 5).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la importante contribución de las siguientes personas que leyeron con detalle

todo o parte del manuscrito e hicieron numerosas y útiles sugerencias y correcciones:

Jennifer Brodbelt, The University of Texas, Austin

Christie G. Enke, University of New Mexico

Peter W. Faguy, University of Louisville

Thomas Gennett, Rochester Institute of Technology

James R. Kincaid, Marquette University

Robert W. Kiser, University of Kentucky

Robert J. Morris, Ball State University

James E. O'Reilly, University of Kentucky

Alexander Scheeline, University of Illinois en Urbana-Champaign

Stanford L. Smith, University of Kentucky

John Walters, St. Olaf College

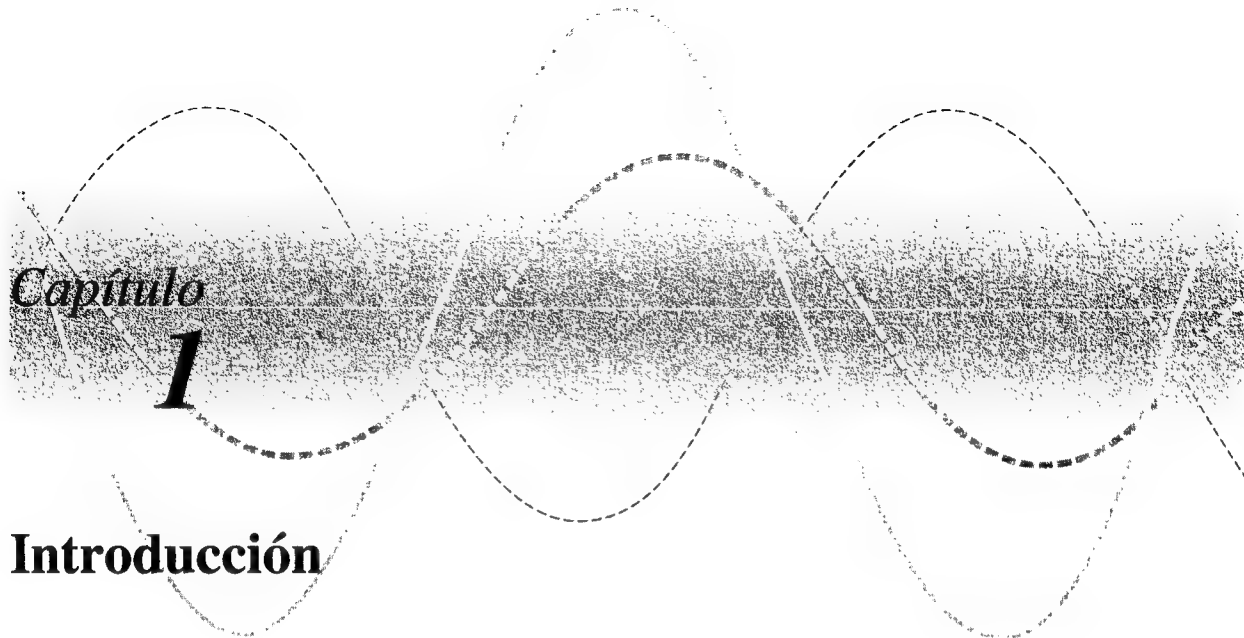
Kathryn Williams, University of Florida

Steven W. Yates, University of Kentucky

Una vez más el equipo se ha beneficiado enormemente de su relación con la Sra. Maggie Johnson, excelente bibliotecaria, responsable de la biblioteca de Química/Física en la University of Kentucky. Ella ayudó en numerosas tareas para la producción de este texto, incluyendo la comprobación de las referencias bibliográficas, efectuando búsquedas de bibliografía y aportando el soporte de la información en muchos de los capítulos. El agradecimiento por su competencia, entusiasmo y buen humor.

Numerosos fabricantes de instrumentación analítica y otros productos y servicios relacionados con la Química analítica han contribuido a la escritura de este libro, aportando esquemas, aplicaciones y fotografías de sus productos. Agradecimiento especial merecen Perkin-Elmer Corporation, Nicolet Corporation, Bioanalytical Systems y Mettler Instrument, por la aportación de fotografías para la presentación de las secciones, así como Galactic Industries, Inc. y Mathsoft, Inc. por haber permitido disponer de su software para efectuar diversos trabajos relativos a la producción de las figuras.

Los autores desean poner de manifiesto que algunas partes de este texto aparecen en otros dos libros en los que participan dos de los presentes autores y el profesor Donald M. West de San Jose



Capítulo

1

Introducción

La Química analítica se ocupa de los métodos de determinación de la composición química de la materia. Un método cualitativo informa sobre la identidad de las especies atómicas o moleculares de la muestra, o de los grupos funcionales que hay en ella; por otra parte, un método cuantitativo aporta información numérica de la cantidad relativa que hay de uno o varios de estos componentes.

1A. CLASIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS

Los métodos analíticos se suelen clasificar en *clásicos* e *instrumentales*. Esta clasificación es, en gran medida histórica, ya que los métodos clásicos a veces denominados *métodos de química húmeda*, precedieron en un siglo o más a los métodos instrumentales.

1A-1. Métodos clásicos

En los primeros años de la Química, la mayor parte de los análisis se realizaban separando los componentes de interés de una muestra (los *analitos*) me-

dante un procedimiento de precipitación, extracción o destilación. En los análisis cualitativos, los componentes separados se trataban seguidamente con reactivos originándose unos productos que se podían identificar por su color, su punto de ebullición o de fusión, su solubilidad en una serie de disolventes, su olor, su actividad óptica o su índice de refracción. En los análisis cuantitativos, la cantidad de analito se determinaba mediante medidas *gravimétricas* o *volumétricas*. En las primeras se determinaba la masa del analito o la de algún compuesto generado a partir del mismo. En los procedimientos volumétricos se determinaba el volumen o el peso de un reactivo patrón que reaccionase completamente con el analito.

Estos métodos clásicos para la separación y determinación de analitos se usan todavía en muchos laboratorios. Sin embargo, su grado de aplicación general va disminuyendo con el paso del tiempo y con la implantación de los métodos instrumentales que los están desplazando.

1A-2. Métodos instrumentales

A principios del siglo XX, los químicos comenzaron a utilizar fenómenos distintos de los utilizados en los métodos clásicos para resolver los proble-

mas analíticos. Así, para el análisis cuantitativo de una gran variedad de analitos inorgánicos, orgánicos y bioquímicos se empezaron a utilizar las medidas de sus propiedades físicas tales como la conductividad, el potencial de electrodo, la absorción o emisión de la luz, la relación masa/carga y la fluorescencia. Además, en la separación de mezclas complejas, técnicas cromatográficas y electroforéticas muy eficaces empezaron a reemplazar a la destilación, extracción y precipitación como etapa previa a su determinación cualitativa o cuantitativa. A estos métodos más modernos para la separación y determinación de especies químicas se les conoce, en conjunto, como *métodos instrumentales de análisis*.

Muchos de los fenómenos en los que se fundamentan los métodos instrumentales se conocen desde hace más de un siglo. Sin embargo, su aplicación por la mayor parte de los químicos se retrasó por falta de una instrumentación sencilla y fiable. De hecho, el crecimiento de los métodos instrumentales de análisis modernos ha ido paralelo al desarrollo de la industria electrónica e informática.

1B. TIPOS DE MÉTODOS INSTRUMENTALES

Para este estudio, es conveniente considerar las propiedades químicas y físicas que se puedan utilizar en el análisis cualitativo o cuantitativo. La Tabla 1-1 enumera la mayoría de las propiedades características que se utilizan actualmente en análisis instrumental. La mayor parte de ellas requieren una fuente de energía para estimular una respuesta medible que procede del analito. Por ejemplo, en emisión atómica se requiere un aumento de temperatura del analito para que, en primer lugar se produzcan átomos en estado gaseoso y después para excitar dichos átomos a niveles de mayor energía. Posteriormente emiten una radiación electromagnética característica que es la cantidad medida por el instrumento. La energía de excitación puede darse como un cambio térmico rápido, tal como sucede en el ejemplo anterior, donde la radiación electromagnética de la región del espectro seleccionada se transforma en un parámetro eléctrico tal como potencial, corriente o carga o bien, tener formas más sutiles, intrínsecas al propio analito.

TABLA 1-1. Propiedades químicas y físicas que se emplean en los métodos instrumentales

Propiedades	Métodos instrumentales
Emisión de la radiación	Espectroscopia de emisión (rayos X, UV, visible, de electrones, Auger); fluorescencia, fosforescencia y luminiscencia (rayos X, UV y visible)
Absorción de la radiación	Espectrofotometría y fotometría (rayos X, UV, visible, IR); espectroscopia fotoacústica; resonancia magnética nuclear y espectroscopia de resonancia de espín electrónico
Dispersión de la radiación	Turbidimetría; nefelometría, espectroscopia Raman
Refracción de la radiación	Refractometría; interferometría
Difracción de la radiación	Métodos de difracción de rayos X y de electrones
Rotación de la radiación	Polarimetría; dispersión rotatoria óptica; dicroísmo circular
Potencial eléctrico	Potenciometría; cronopotenciometría
Carga eléctrica	Culombimetría
Corriente eléctrica	Polarografía; amperometría
Resistencia eléctrica	Conductimetría
Masa	Gravimetría (microbalanza de cristal de cuarzo)
Razón masa a carga	Espectrometría de masas
Velocidad de reacción	Métodos cinéticos
Propiedades térmicas	Gravimetría y volumetría térmica; calorimetría de barrido diferencial; análisis térmico diferencial; métodos de conductividad térmica
Radiactividad	Métodos de activación y de dilución isotópica

Obsérvese que las seis primeras entradas de la Tabla 1-1 están relacionadas con las interacciones del analito y la radiación electromagnética. En la primera, el analito origina la señal radiante; las cinco siguientes implican cambios en el haz de radiación producidos por su interacción con la muestra. Las cuatro que siguen son eléctricas. Por último, cuatro propiedades diversas se agrupan conjuntamente: la relación masa/carga, la velocidad de reacción, las señales térmicas y la radiactividad.

La segunda columna de la Tabla 1-1 indica los nombres de los métodos instrumentales relacionados con las distintas propiedades físicas y químicas. Hay que tener en cuenta que no siempre es fácil elegir el método óptimo de entre la cantidad de técnicas instrumentales disponibles, así como de sus homólogos clásicos. Algunas de ellas son más sensibles que las técnicas clásicas, pero otras no. Un método instrumental puede ser más selectivo para ciertos compuestos o combinaciones de elementos; pero para otros, un análisis volumétrico o gravimétrico puede tener menores interferencias. Son igualmente difíciles de establecer las generalizaciones sobre la exactitud, la idoneidad o el tiempo empleado. Tampoco es necesariamente cierto que los procedimientos instrumentales utilicen aparatos más sofisticados y más costosos; en realidad, la balanza analítica electrónica moderna que se emplea en las determinaciones gravimétricas es un instrumento más complejo y refinado que muchos de los usados en algunos de los métodos mencionados en la Tabla 1-1.

Como se ha indicado, además de los numerosos métodos señalados en la segunda columna de la Tabla 1-1, existe un grupo de procedimientos instrumentales que se utilizan para separar y resolver compuestos afines. La mayoría de ellos están relacionados con la cromatografía y la electroforesis. Para completar el análisis, tras las separaciones cromatográficas, se suele usar alguna de las propiedades de la Tabla 1-1. Con esta finalidad se han utilizado, por ejemplo, la conductividad térmica, la absorción en el infrarrojo y el ultravioleta, el índice de refracción y la conductancia eléctrica.

En este libro se abordan los principios, las aplicaciones y las características del funcionamiento de los métodos instrumentales enumerados en la Tabla 1-1, así como de los procedimientos de separación cromatográficos y electroforéticos. Los métodos clásicos no se tratan dado que se supone que el lector habrá aprendido estas técnicas en estudios anteriores.

1C. INSTRUMENTOS PARA EL ANÁLISIS

Un instrumento para el análisis químico transforma la información relacionada con las propiedades físicas o químicas del analito en información que pueda ser manipulada e interpretada por un ser humano. Por tanto, un instrumento analítico puede considerarse como un dispositivo de comunicación entre el sistema objeto de estudio y el científico. Para conseguir la información del analito deseada es necesario proporcionar un estímulo, generalmente en forma de energía electromagnética, eléctrica, mecánica o nuclear, como se muestra en la Figura 1-1. El estímulo provoca una respuesta del sistema objeto de estudio, en la cual la naturaleza y magnitud de la misma se rigen por las leyes fundamentales de la Química y de la Física. La información resultante radica en el fenómeno que surge de la interacción del estímulo con el analito. Un ejemplo habitual es el paso de una banda estrecha de longitudes de onda de luz visible a través de una muestra para medir la capacidad de absorción del analito. Se determina la intensidad de la luz antes y después de su interacción con la muestra y la relación entre ellas proporciona la medida de la concentración del analito.

En general, los instrumentos para el análisis químico constan solamente de unos cuantos componentes básicos, algunos de los cuales se enumeran en la Tabla 1-2. Resulta instructivo ahondar en el concepto de los *dominios de los datos* para entender la relación que existe entre los componentes del instrumento y el flujo de información que se transmite de las propiedades del analito a través de los componentes, hasta el resultado numérico o gráfico que produce el instrumento.

1C-1. Dominios de los datos

En el proceso de medida colaboran una amplia variedad de dispositivos que transforman la informa-

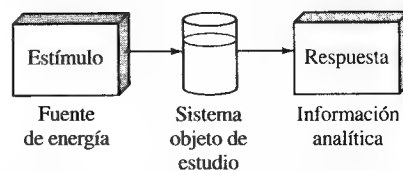


Figura 1-1. Diagrama de bloques que muestra el proceso completo de una medida instrumental.

TABLA 1-2. Algunos ejemplos de los componentes de los instrumentos

Instrumento	Fuente de energía (estímulo)	Señal analítica	Transductor de entrada	Dominio de los datos de la información transformada	Procesador de señal	Lectura
Fotómetro	Lámpara de wolframio, filtro de vidrio	Haz de luz atenuado	Fotocélula	Corriente eléctrica	Escala de medida	Medidor de corriente
Espectrómetro de emisión atómica	Llama	Radiación UV o visible	Tubo foto-multiplicador	Potencial eléctrico	Amplificador, desmodulador, monocromador, cortador	Registrador sobre papel
Culombímetro	Fuente de corriente continua	Corriente de la celda	Electrodos	Corriente eléctrica	Amplificador	Registrador sobre papel
pH metro	Muestra, electrodo de vidrio	Actividad del ion hidrógeno	Electrodos de vidrio y de calomelanos	Potencial eléctrico	Amplificador, digitalizador	Unidad digital
Difractómetro de rayos X para polvo	Tubo de rayos X, muestra	Radiación difractada	Película fotográfica	Imagen latente	Revelador químico	Imágenes ennegrecidas en una película
Comparador de color	Luz solar	Color	Ojo humano	Señal del nervio óptico	Cerebro humano	Respuesta visual al color

ción de una forma a otra. Para estudiar cómo funcionan los instrumentos es importante entender la manera en la que *se codifica* la información, o se transforma de un sistema de información a otro como una *señal eléctrica*, tal como tensión, corriente, carga o variaciones en estas cantidades. Los diferentes modos de codificar la información en forma eléctrica se denominan *dominios de los datos*. Se ha realizado una clasificación esquemática basada en este concepto, que simplifica en gran medida el análisis de los sistemas instrumentales y facilita la comprensión del proceso de medida¹. Como se muestra en el mapa de los dominios de los datos de la Figura 1-2, éstos se pueden clasificar, en general, en *dominios eléctricos* y *dominios no eléctricos*.

1C-2. Dominios no eléctricos

El proceso de medida empieza y termina en dominios no eléctricos. Las propiedades físicas y químicas

que son de interés en un experimento concreto radican en estos dominios de los datos. Entre estas propiedades se encuentran la longitud, la densidad, la composición química, la intensidad de la luz, la presión y otras propiedades enumeradas en la primera columna de la Tabla 1-1.

Se puede realizar una medida completa en dominios no eléctricos. Por ejemplo, la determinación de la masa de un objeto usando una balanza mecánica de brazos iguales conlleva la comparación de la masa del objeto, que se coloca en uno de los platos de la balanza, con unos pesos patrones colocados en el otro plato. La información que representa la masa del objeto en unidades patrón es codificada directamente por el investigador, el cual procesa la información sumando las masas para obtener un número. En otras balanzas mecánicas, la fuerza de la gravedad de una masa se amplifica de manera mecánica al hacer que uno de los brazos de la balanza sea más largo que el otro, incrementando así la resolución de la medida.

Otros ejemplos de medidas realizadas exclusivamente en dominios no eléctricos son la determinación de las dimensiones lineales de un objeto con

¹ C. G. Enke, *Anal. Chem.*, **1971**, 43, 69A.

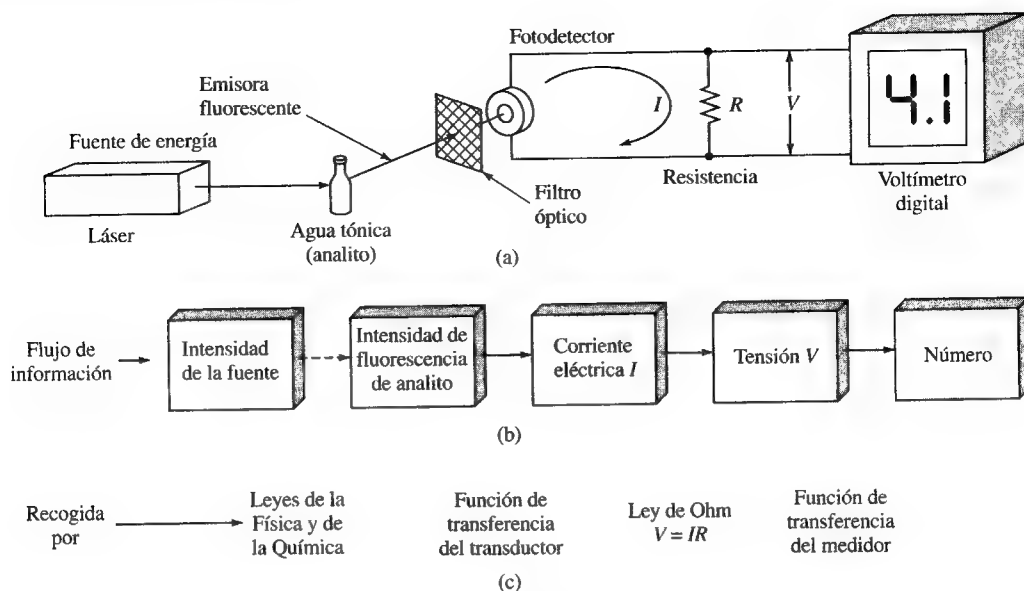


Figura 1-3. Diagrama de bloques de un fluorímetro que muestra (a) un diagrama general del instrumento, (b) una representación esquemática del flujo de información a través de varios dominios de los datos en el instrumento, y (c) leyes que rigen las transformaciones de los dominios de los datos durante el proceso de medida.

cual, a su vez, es proporcional a la intensidad de fluorescencia. Finalmente, un voltímetro digital mide V que da una lectura proporcional a la concentración de quinina en la muestra.

Los voltímetros, los visualizadores alfanuméricos, los motores eléctricos, las pantallas de ordenador y otros muchos dispositivos que sirven para convertir los datos de dominios eléctricos a no eléctricos se denominan *transductores de salida*. El voltímetro digital del fluorímetro de la Figura 1-3a es un transductor de salida complejo que transforma una tensión V en un número en una pantalla de cristal líquido, de manera que pueda ser leído e interpretado por el usuario del instrumento. En los Capítulos 2 al 4 se estudiarán detalladamente los voltímetros digitales, otros circuitos y señales eléctricas

Dominios analógicos

En los *dominios analógicos* la información se codifica como la *magnitud* de una cantidad eléctrica (tensión, intensidad de corriente, carga o potencia). Estas cantidades son continuas en amplitud y tiempo, como se muestra con las señales analógicas típicas de la Figura 1-4. Las magnitudes de las cantidades analógicas se pueden medir de manera continua, o en momentos específicos de tiempo, según dicten las propias necesidades de un experi-

mento concreto o del método instrumental, como se discutirá en el Capítulo 4. A pesar de que los datos que recoge la Figura 1-4 se registran como una función del tiempo, cualquier variable como la longitud de onda, la fuerza del campo magnético o la temperatura pueden ser la variable independiente en determinadas circunstancias. La correlación entre dos señales analógicas que se obtiene de la correspondiente medida de las propiedades físicas o químicas es importante en una gran variedad de técnicas instrumentales, como la espectroscopia de resonancia magnética nuclear, la espectroscopia en el infrarrojo o el análisis térmico diferencial.

Las señales analógicas son especialmente susceptibles al ruido eléctrico, consecuencia de las interacciones dentro de los circuitos de medida o de otros dispositivos eléctricos próximos a los sistemas de medida. Este ruido indeseable no tiene ninguna relación con la información de interés, de modo que se han desarrollado métodos para minimizar los efectos de esta información no deseada. En el Capítulo 5 se estudian las señales, el ruido y la optimización de la respuesta del instrumento.

Dominios del tiempo

En los dominios del tiempo, la información se almacena como las variaciones de la señal respecto

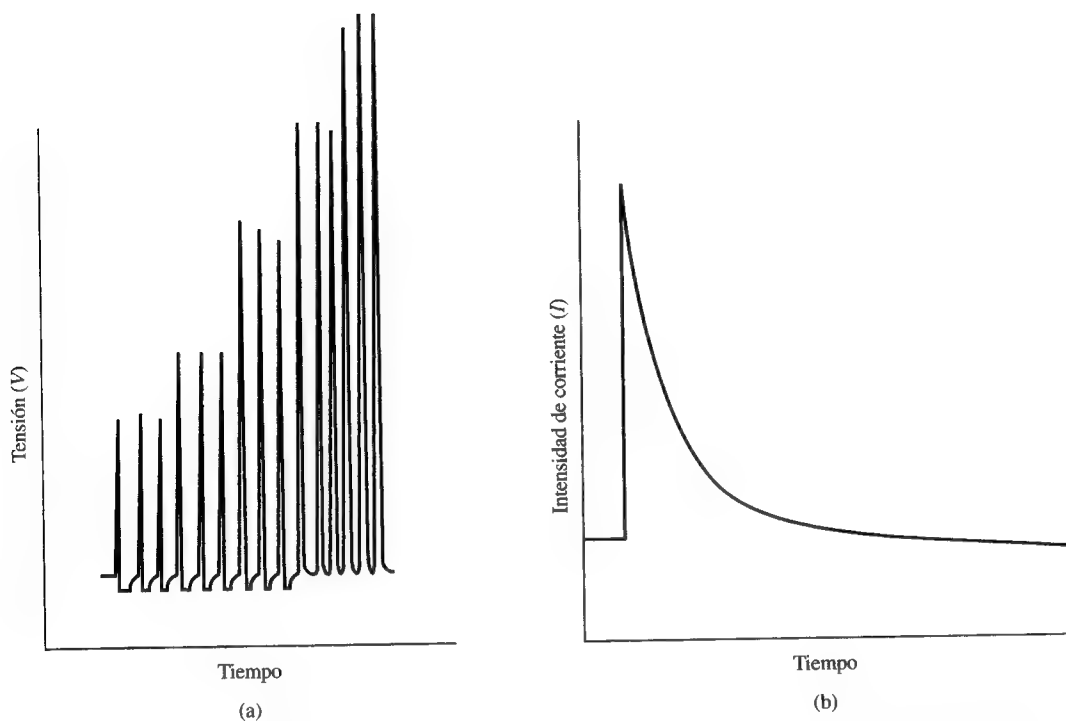


Figura 1-4. Señales analógicas. (a) Respuesta instrumental de un sistema de detección fotométrico en un experimento de análisis por inyección en flujo. Registros de una mezcla de reacción que contiene bolos de $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$ rojo, el flujo pasa por una fuente de luz monocromática y por un fotodetector produciéndose un cambio en el potencial al cambiar la concentración de la muestra. (b) Respuesta de la intensidad de corriente del tubo fotomultiplicador cuando la luz de la fuente pulsante incide en el fotocátodo del dispositivo.

al tiempo, más que como la amplitud de las señales. La Figura 1-5 muestra tres señales diferentes en el dominio del tiempo representadas como una cantidad analógica respecto al tiempo. Las líneas horizontales discontinuas representan una señal analógica umbral, que es arbitraria, utilizada para decidir si una señal es HI (por encima del umbral) o LO (por debajo del umbral). Las relaciones temporales entre las transiciones de la señal desde HI a LO o de LO a HI contienen la información de interés. En los instrumentos que producen señales periódicas, el número de ciclos de una señal por unidad de tiempo es la *frecuencia*, y el tiempo necesario para cada ciclo es su *período*. Dos ejemplos de sistemas instrumentales que producen información codificada en el dominio de la frecuencia son la espectroscopia Raman y el análisis instrumental por activación neutrónica. En estos métodos, la frecuencia de llegada de fotones al detector se relaciona directamente con la intensidad de la emisión del analito, la cual es proporcional a su concentración.

El tiempo entre transiciones sucesivas de LO a HI se llama *período*, y el tiempo entre una transi-

ción de LO a HI o una de HI a LO se denomina *amplitud del impulso*. Los dispositivos como los convertidores de tensión a frecuencia y los de frecuencia a tensión se pueden utilizar para transformar las señales en el dominio del tiempo a señales en dominios analógicos y viceversa. Éste y otros, como los *convertidores de dominios de los datos* se discutirán en los Capítulos 3 y 4 como parte del estudio de los dispositivos electrónicos y se hará referencia a ellos en otros contextos a lo largo del libro.

Dominios digitales

En el dominio digital, los datos se codifican en un esquema de dos niveles. La información se puede representar observando el estado de una bombilla, un diodo emisor de luz, un conmutador de palanca, o una señal de nivel lógico, por citar algunos ejemplos. La característica común a todos estos dispositivos es que sólo puede estar en una de las dos únicas posiciones posibles. Por ejemplo, las luces y los interruptores sólo pueden estar en ABIERTO o

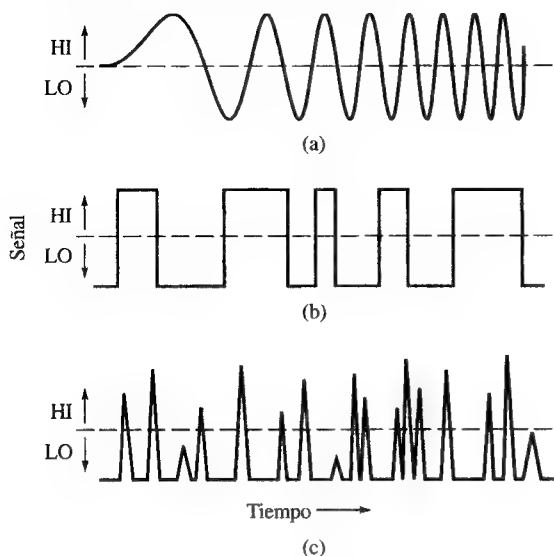


Figura 1-5. Señales en el dominio del tiempo. La línea horizontal de trazos discontinuos representa el umbral de la señal. Cuando la señal se encuentra por encima del umbral es HI, cuando se encuentra por debajo del umbral, la señal es LO.

CERRADO y las señales de nivel lógico sólo pueden ser HI o LO. La definición de lo que es ABIERTO y CERRADO para los interruptores y las luces se comprende bien, pero en el caso de las señales eléctricas, así como en el de las señales de dominio del tiempo, se debe definir un nivel de señal arbitrario que permita distinguir entre HI y LO. Esta definición puede depender de las condiciones de un experimento, o de las características de los dispositivos electrónicos utilizados. Por ejemplo, la señal representada en la Figura 1-5c corresponde a una serie de impulsos que proceden de un detector nuclear. El cometido de la medida consiste en contar los impulsos durante un período de tiempo establecido para obtener una medida de la intensidad de la radiación. La línea discontinua representa un nivel de señal que es lo suficientemente bajo como para asegurar que no se pierden pulsos, y lo suficientemente alto como para evitar las de la señal que no están relacionadas con el fenómeno nuclear estudiado. Si la señal atraviesa el umbral catorce veces, como en el caso de la Figura 1-5c, se tiene la seguridad de que se han producido catorce emisiones nucleares. Después de haber contado las emisiones, los datos se codifican en el dominio digital tomando la forma del número 14. En el Capítulo 4 se estudiarán los modos de obtener señales electrónicas de HI-LO y de codificar la información en el dominio digital.

Como sugiere el mapa de los dominios de los datos de la Figura 1-2, los dominios digitales incluyen dominios eléctricos y no eléctricos. En el ejemplo anterior, las emisiones nucleares se acumulan utilizando un contador electrónico y se visualizan como una lectura digital. Cuando el investigador lee e interpreta el resultado, el número que representa la cantidad medida está, una vez más, en un dominio no eléctrico. Cada porción de datos HI-LO que representa una emisión nuclear es un *bit* de información, que es la unidad fundamental de los dominios digitales. Los bits que se transmiten a través de un canal electrónico o un cable pueden ser contabilizados por un observador, o mediante un dispositivo electrónico que está controlando el canal; la expresión utilizada para estos datos acumulados es la de *cómputo de datos digitales*, que aparece en el mapa de los dominios de los datos de la Figura 1-2. Por ejemplo, la señal de la Figura 1-5a corresponde al número $n = 8$ porque se han producido ocho ciclos completos de la señal. La señal de la Figura 1-5b corresponde a $n = 5$ y la señal de la Figura 1-5c corresponde a $n = 14$. Aunque útil, esta forma de transmitir la información no es muy eficaz.

Una manera más eficaz de codificar la información es utilizando los números binarios para representar los datos numéricos y alfabéticos. Para ver cómo se lleva a cabo este tipo de codificación, considérese las señales de la Figura 1-6. Como antes, el cómputo de datos digitales de la señal de la Figura 1-6a representa el número $n = 5$. Se controla la señal y se cuenta el número de oscilaciones completas. El proceso requiere un período de tiempo que es proporcional al número de ciclos de la señal, o en este caso, a cinco veces la amplitud de un intervalo de tiempo, según se indica en la Figura 1-6. Obsérvese que los intervalos de tiempo se numeran de manera consecutiva empezando por el cero. En un esquema de codificación binaria, como el que se muestra para la señal de la Figura 1-6b, se asigna un valor numérico a cada intervalo de tiempo de manera sucesiva. Por ejemplo, el intervalo de tiempo cero se representa como $2^0 = 1$, el intervalo de tiempo uno se representa como $2^1 = 2$, el intervalo de tiempo dos se representa como $2^2 = 4$, y así sucesivamente, según se observa en la Figura 1-6. Durante cada intervalo de tiempo, sólo hay que determinar si la señal es HI o LO. Si es HI durante cualquier intervalo de tiempo dado, el valor correspondiente se suma al total. Todos los intervalos que son LO contribuyen al total como cero.

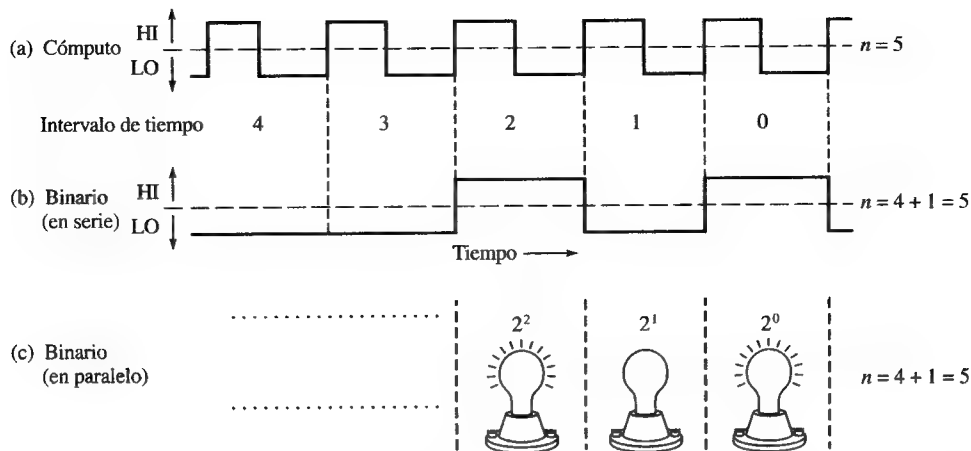


Figura 1-6. Diagrama que ilustra los tres tipos de datos digitales: (a) cómputo de datos en serie (b) datos codificados en sistema binario en serie y (c) datos binarios en paralelo. En los tres casos, el número representado es $n = 5$.

En la Figura 1-6b, la señal es HI sólo en el intervalo 0 y en el intervalo 2, por tanto, el valor total representado es $1 \times 2^0 + 0 \times 2^1 + 1 \times 2^2 = 5$. Por tanto, se ha determinado el número $n = 5$ en el espacio de tan sólo tres intervalos de tiempo. En el ejemplo del cómputo digital de la señal de la Figura 1-6a, hicieron falta cinco intervalos de tiempo para determinar el mismo número. En este ejemplo en concreto, los datos codificados en series binarias son aproximadamente el doble de eficaces que el recuento de datos en serie. Un ejemplo más elocuente puede verse en la medida de $n = 10$ oscilaciones semejantes a la señal de la Figura 1-6a. En los mismos diez intervalos de tiempo, diez bits de información HI-LO en un esquema de codificación en series binarias permiten la representación de los números binarios de 0 a $2^{10} = 1.024$, o 0000000000 a 1111111111. La mejora en la eficacia es $1.024/10$, alrededor de 100 veces. En otras palabras, el esquema de cómputo en serie requiere 1.024 intervalos de tiempo para representar el número 1.024, mientras que el esquema de codificación binaria requiere solamente diez intervalos. Como consecuencia de su eficacia, la mayoría de la información digital es codificada, transferida, procesada y descodificada en sistema binario.

Los datos representados mediante codificación binaria en una línea de transmisión sencilla se denominan *datos codificados en sistema binario en serie* o simplemente *datos en serie*. Un ejemplo corriente de transmisión de datos en serie es el *módem* de los ordenadores, que es un dispositivo para la transmisión de datos entre ordena-

dores por un conductor y tierra a través del teléfono.

En la señal de la Figura 1-6c, se muestra un método aún más eficaz para codificar datos en el dominio digital. En este caso, se utilizan tres bombillas para representar los tres dígitos binarios: $2^0 = 1$; $2^1 = 2$ y $2^2 = 4$. No obstante, también se podrían usar interruptores, cables, diodos emisores de luz o múltiples dispositivos electrónicos para codificar información. En este esquema, ABIERTO = 1 y CERRADO = 0, de manera que el número de la Figura 1-6 se codifica con la primera y la tercera bombilla como CERRADO y la de en medio como ABIERTO, lo cual supone $4 + 0 + 1 = 5$. Este esquema es muy eficaz porque toda la información buscada se presenta simultáneamente, al igual que aparecen todos los dígitos de la pantalla del voltímetro digital de la Figura 1-3a. Los datos presentados de esta manera se llaman *datos digitales en paralelo*. Los datos, dentro de los instrumentos analíticos y de los ordenadores, se transmiten mediante transmisión de datos en paralelo. Dado que la distancia entre los aparatos que transmiten y los que reciben es relativamente corta, resulta económico y eficaz utilizar la transferencia de información en paralelo. Esta circunstancia contrasta con la situación en la que los datos se deben transmitir a largas distancias entre los instrumentos, o entre los ordenadores. En estos casos, la comunicación se realiza utilizando módems u otros sistemas de transmisión de datos en serie más sofisticados y rápidos. En el Capítulo 4 se estudian con más detalle estos conceptos.

1C-4. Detectores, transductores y sensores

Los términos *detector*, *transductor* y *sensor* se utilizan, con frecuencia, como sinónimos, pero tienen un significado con matices diferentes. El término más general de los tres, *detector*, se refiere a un dispositivo mecánico, eléctrico o químico que identifica, registra o indica un cambio en alguna de las variables de su entorno, tal como la presión, la temperatura, la carga eléctrica, la radiación electromagnética, la radiación nuclear, las partículas o las moléculas. Este término se ha convertido en un comodín, hasta el punto de que, a menudo, se denominan *detectores* a instrumentos enteros. En el contexto del análisis instrumental, se debería utilizar el término *detector* con el sentido general con el que lo acabamos de definir, y se debería utilizar *sistemas de detección* para referirse al conjunto completo de dispositivos que indican o registran cantidades físicas o químicas.

Un ejemplo es el detector de UV (ultravioleta) utilizado, a menudo, para indicar o registrar la presencia de los analitos eluidos en cromatografía de líquidos.

El término *transductor* se refiere, de manera específica, a los dispositivos que convierten la información en dominios no eléctricos a dominios eléctricos y viceversa. Algunos ejemplos de transductores son los fotodiodos, fotomultiplicadores y otros fotodetectores electrónicos que producen corrientes o potenciales proporcionales a la potencia radiante de la radiación electromagnética que incide en sus superficies. Otros ejemplos son los termistores, los medidores de deformación y los transductores magnéticos de efecto Hall. Como se consideró anteriormente, la relación matemática entre la salida eléctrica y la entrada de la potencia radiante, temperatura, tensión o fuerza del campo magnético se denomina *función de transferencia* del transductor.

El término *sensor* también ha sido bastante ampliado, pero en este texto se reserva dicho término para el tipo de dispositivos analíticos que son capaces de controlar determinadas especies químicas de manera continua y reversible. Existe un gran número de ejemplos de sensores en este libro, tales como el electrodo de vidrio y otros electrodos selectivos de iones, que se tratan en el Capítulo 23; el electrodo de oxígeno de Clark, que se estudia en el Capítulo 25; y los optrodos, o los sensores de fibra óptica, que aparecen en el Capítulo 7. Los sensores constan de un transductor que está acoplado a una

fase de reconocimiento químicamente selectiva. Así, por ejemplo, los *optrodos* constan de un fotodetector acoplado a una fibra óptica que está recubierta en su extremo opuesto al transductor con una sustancia que responde específicamente a una propiedad física o química concreta del analito.

Un sensor especialmente interesante e instructivo es la *microbalanza de cristal de cuarzo* o QCM. Este dispositivo se basa en las propiedades *piezoeléctricas* del cuarzo. Cuando el cuarzo se deforma mecánicamente, se genera un potencial eléctrico a lo largo de su superficie. Además, cuando se aplica un potencial a través de las caras del cristal de cuarzo, éste se deforma. Un cristal conectado a un circuito eléctrico apropiado oscila con una frecuencia que es característica de la masa y de la forma del cristal y que es extraordinariamente constante, lo cual viene determinado porque la masa del cristal es constante. Esta propiedad de algunos materiales cristalinos se conoce como *efecto piezoeléctrico*, y es el fundamento de la microbalanza de cristal de cuarzo. Asimismo, la frecuencia característica constante del cristal de cuarzo es el fundamento de los relojes modernos de alta precisión, de las bases de tiempos, de contadores, de avisadores y medidores de frecuencia, los cuales han dado lugar a numerosos sistemas instrumentales analíticos, muy exactos y precisos.

Si un cristal de cuarzo se recubre con un polímero que absorbe de manera selectiva ciertas moléculas, la masa del cristal aumenta cuando las moléculas están presentes, y por tanto disminuye la frecuencia de resonancia del cristal de cuarzo. Cuando las moléculas se desorben de la superficie, el cristal recupera su frecuencia original. La relación entre el cambio de la frecuencia del cristal ΔF y el cambio en la masa del cristal ΔM viene dado por

$$\Delta F = \frac{CF^2\Delta M}{A}$$

donde M es la masa del cristal y A es el área de la superficie, F es la frecuencia de oscilación del cristal y C es una constante de proporcionalidad. La ecuación anterior indica que es posible medir cambios muy pequeños en la masa del cristal si la frecuencia del mismo se puede medir con mucha precisión. De aquí se deduce que es posible medir de forma bastante fácil cambios de frecuencia de una por cada 10^7 partes con una instrumentación barata. El límite de detección de un sensor piezoeléctri-

co de este tipo es de alrededor de 1 pg o 10^{-12} g . Estos sensores se han utilizado para detectar gran cantidad de analitos en fase gaseosa incluyendo el formaldehído, el ácido clorhídrico, el ácido sulfhídrico y el benceno. También se ha propuesto su uso como sensores para agentes utilizados en la guerra química como el gas mostaza o el fosgeno.

Los sensores de masa piezoeléctricos constituyen un buen ejemplo de un transductor que convierte una propiedad del analito, en este caso la masa, en un cambio de una cantidad eléctrica, la frecuencia de resonancia del cristal de cuarzo. Este ejemplo ilustra también la diferencia entre un transductor y un sensor. En la microbalanza de cristal de cuarzo, el transductor es el cristal de cuarzo y el recubrimiento polimérico es la segunda fase selectiva. La combinación del transductor y de la fase selectiva constituye el sensor.

1C-5. Dispositivos de lectura

Un dispositivo de lectura es un transductor que convierte la información que procede de un dominio eléctrico a otro que sea comprensible para el observador. Generalmente la señal transformada tiene la forma de la señal de salida alfanumérica o gráfica en un tubo de rayos catódicos, de una serie de números en un visualizador digital, de la posición de una aguja en una escala métrica o, en ocasiones, de impresiones en una placa fotográfica o de un trazo en un papel de registro. En algunos casos, el dispositivo de lectura se puede preparar para que proporcione directamente la concentración del analito.

1C-6. Microprocesadores y ordenadores en los instrumentos

La mayoría de los instrumentos analíticos modernos disponen, o están acoplados, a uno o más dispositivos electrónicos sofisticados y a convertidores de dominios de los datos, como los amplificadores operacionales, los circuitos integrados, los convertidores analógico-digitales y digital-analógicos, los contadores, los microprocesadores y ordenadores. Para apreciar la capacidad y las limitaciones de estos instrumentos, es necesario que el investigador tenga, al menos, un conocimiento cualitativo del funcionamiento y de las posibilidades de estos dispositivos. Los Capítulos 3 y 4 aportan un breve tratamiento de estos importantes aspectos.

1D. SELECCIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO

La segunda columna de la Tabla 1-1 pone de manifiesto que el químico actual dispone de una enorme serie de herramientas para realizar los análisis, tantas que, de hecho, la elección resulta, a menudo, difícil. En este apartado se estudia cómo se realiza dicha elección.

1D-1. Definición del problema

Para poder seleccionar correctamente un método analítico, es esencial definir con claridad la naturaleza del problema analítico, y esta definición requiere contestar a las siguientes preguntas:

1. ¿Qué exactitud se requiere?
2. ¿De cuánta muestra se dispone?
3. ¿En qué intervalo de concentraciones está el analito?
4. ¿Qué componentes de la muestra interfieren?
5. ¿Cuáles son las propiedades físicas y químicas de la matriz de la muestra?
6. ¿Cuántas muestras hay que analizar?

Es de vital importancia la respuesta a la primera pregunta, ya que determina el tiempo y el esmero que requerirá el análisis. Las respuestas a la segunda y tercera determinan lo sensible que debe ser el método y al intervalo de concentraciones al que debe adaptarse. La respuesta a la cuarta pregunta determina qué selectividad se requiere. Es importante la respuesta a la quinta pregunta porque algunos de los métodos analíticos de la Tabla 1-1 sirven para disoluciones de analito (normalmente acuosas). Otros se aplican con mayor facilidad a muestras gaseosas, mientras que otros métodos son más adecuados para el análisis directo de sólidos.

Una consideración importante desde un punto de vista económico es el número de muestras que hay que analizar (pregunta sexta). Si es elevado, se puede invertir más tiempo y dinero en la instrumentación, en el desarrollo del método y en la calibración. Además, si el número fuera muy elevado, debería elegirse un método que precisara del mínimo tiempo de dedicación del operador a cada muestra. Por otro lado, si sólo se han de analizar pocas muestras, la elección adecuada suele ser la de un método más sencillo, aunque

sea más largo y que requiera poco o ningún tratamiento previo.

Teniendo en cuenta las respuestas a las seis cuestiones anteriores, se puede escoger un método, siempre que se conozcan las características del funcionamiento de los distintos métodos instrumentales indicados en la Tabla 1-1.

1D-2. Características de funcionamiento de los instrumentos; parámetros de calidad

En la Tabla 1-3 se enumeran los criterios cuantitativos de funcionamiento de los instrumentos, criterios que se pueden utilizar para decidir si un determinado método instrumental es o no adecuado para resolver un problema analítico. Estas características se expresan en términos numéricos y se denominan *parámetros de calidad*. Para un problema analítico dado, los *parámetros de calidad* permiten reducir la elección de los instrumentos a tan sólo unos pocos y entonces la selección entre ellos ya se hace con los criterios cualitativos de funcionamiento señalados en la Tabla 1-4.

En este apartado se definen los seis parámetros de calidad indicados en la Tabla 1-3. Estos parámetros se usarán a lo largo del texto al explicar los distintos instrumentos y métodos instrumentales

TABLA 1-3. Criterios numéricos para seleccionar métodos analíticos

Criterio	Parámetro de calidad
1. Precisión	Desviación estándar absoluta, desviación estándar relativa, coeficiente de variación, varianza
2. Sesgo	Error absoluto sistemático, error relativo sistemático
3. Sensibilidad	Sensibilidad de calibración, sensibilidad analítica
4. Límite de detección	Blanco más tres veces la desviación estándar del blanco
5. Intervalo de concentración	Concentración entre el límite de cuantificación (LOQ) y el límite de linealidad (LOL)
6. Selectividad	Coeficiente de selectividad

TABLA 1-4. Otras características a tener en cuenta en la elección del método

1. Velocidad
2. Facilidad y comodidad
3. Habilidad del operador
4. Coste y disponibilidad del equipo
5. Coste por muestra

Precisión

Tal como se indica en la Apartado a1A, del Apéndice 1, la precisión de los datos analíticos se define como el grado de concordancia mutua entre los datos que se han obtenido de una misma forma. La precisión indica la medida del error aleatorio, o indeterminado, de un análisis. Los parámetros de calidad de la precisión son la *desviación estándar absoluta*, la *desviación estándar relativa*, el *coeficiente de variación* y la *varianza*. Estos términos se definen en la Tabla 1-5.

TABLA 1-5. Parámetros de calidad para la precisión de los métodos analíticos

Términos	Definición*
Desviación estándar absoluta, s	$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}}$
Desviación estándar relativa (RSD)	$\text{RSD} = \frac{s}{\bar{x}}$
Desviación estándar de la media, s_m	$s_m = s/\sqrt{N}$
Coeficiente de variación, CV	$\text{CV} = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\%$
Varianza	s^2

* x_i = valor numérico de la i ésima medida.

$$\bar{x} = \text{media de } N \text{ medidas} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N}$$

Sesgo

Como se indica en el Apartado a1A-2, del Apéndice 1, el sesgo mide el error sistemático, o determinado, de un método analítico. El sesgo se define mediante la ecuación

$$\text{sesgo} = \mu - x_i \quad (1-1)$$

donde μ es la media de la población de la concentración de un analito en una muestra cuya concentración verdadera es x_i . Para determinar la exactitud hay que analizar uno o varios materiales de referencia cuya concentración de analito es conocida. Las fuentes de dichos materiales se dan en las referencias 3 y 4 del Apartado a1A-2 del Apéndice 1. Sin embargo, los resultados de dichos análisis también tendrán tanto errores aleatorios como errores sistemáticos, pero si se realiza un número suficiente de determinaciones, se puede determinar el valor de la media, para un nivel de confianza dado. Como se muestra en la Apartado a1B-2, del Apéndice 1, se puede suponer que la media de 20 o 30 análisis replicados es una buena estimación de la media de la población μ en la Ecuación 1-1. Cualquier diferencia entre esta media y la concentración del analito indicada en el material de referencia se puede atribuir al sesgo. Si no es posible realizar 20 replicados del análisis de un patrón, la presencia o ausencia del sesgo puede evaluarse como se señala en el Ejemplo a1-7 del Apéndice 1.

En general, al desarrollar un método analítico, todos los esfuerzos se dirigen hacia la identificación de la causas del sesgo y a su eliminación o corrección mediante el uso de blancos y el calibrado del instrumento.

Sensibilidad

En general se acepta que la sensibilidad de un instrumento o de un método es una medida de su capacidad de diferenciar pequeñas variaciones en la concentración del analito. Dos factores limitan la sensibilidad: la pendiente de la curva de calibrado y la reproducibilidad o precisión del sistema de medida. Entre dos métodos que tengan igual precisión, será más sensible aquel cuya curva de calibrado tenga mayor pendiente. Un corolario a esta afirmación es que si dos métodos tienen curvas de calibrado con igual pendiente, será más sensible aquel que presente la mejor precisión.

La definición cuantitativa de sensibilidad, aceptada por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), es la de sensibilidad de calibrado, que se define como la pendiente de la curva de calibrado a la concentración objeto de estudio. La mayoría de las curvas de calibrado que se usan en química analítica son lineales y se pueden representar mediante la ecuación

$$S = mc + S_{bi} \quad (1-2)$$

en la que S es la señal medida, c es la concentración del analito, S_{bi} es la señal instrumental de un blanco y m es la pendiente de la línea recta. El valor de S_{bi} será la intersección de la recta con el eje y . En dichas curvas, la sensibilidad de calibrado es independiente de la concentración c y es igual a m . La sensibilidad de calibrado como parámetro de calidad tiene el inconveniente de no tener en cuenta la precisión de las medidas individuales.

Mandel y Stiehler² consideraron la necesidad de incluir la precisión en un tratamiento matemático coherente para la sensibilidad y proponen la siguiente definición para la *sensibilidad analítica*, γ

$$\gamma = m/s_s \quad (1-3)$$

Aquí, m es de nuevo la pendiente de la curva de calibrado y s_s es la desviación estándar de las medidas.

La sensibilidad analítica tiene la ventaja de ser relativamente insensible a los factores de amplificación. Por ejemplo, al aumentar la ganancia de un instrumento por un factor de cinco, el valor de m se incrementará en cinco veces. Sin embargo, este aumento vendrá acompañado, en general, del correspondiente aumento en s_s , y por tanto la sensibilidad analítica se mantendrá prácticamente constante. La segunda ventaja de la sensibilidad analítica radica en su independencia de las unidades de medida de S .

Una desventaja de la sensibilidad analítica es que generalmente depende de la concentración, ya que s_s puede variar con ella.

Límite de detección

La definición cualitativa más aceptada para el límite de detección es la mínima concentración o la mí-

² J. Mandel y R. D Stiehler, *J. Res. Natl. Bur. Std.*, **1964**, A53, 155.

nima masa de analito que se puede detectar para un nivel de confianza dado. Este límite depende de la relación entre la magnitud de la señal analítica y el valor de las fluctuaciones estadísticas de la señal del blanco. Por tanto, a no ser que la señal analítica sea mayor que la del blanco, en un múltiplo k de la variación del blanco debida a errores aleatorios, no será posible detectar con certeza esta señal. Así, al aproximarse al límite de detección, la señal analítica y su desviación estándar se aproximan a la señal del blanco S_{bl} y a su desviación estándar s_{bl} . Por tanto la mínima señal analítica distinguible S_m se considera que es igual a la suma de la señal media del blanco $\bar{S}_{bl}$ más un múltiplo k de la desviación estándar del mismo. Esto es,

$$S_m = \bar{S}_{bl} + k s_{bl} \quad (1-4)$$

Experimentalmente, S_m se puede determinar realizando 20 o 30 medidas del blanco, preferiblemente durante un amplio período de tiempo. A continuación, los datos se tratan estadísticamente para obtener $\bar{S}_{bl}$ y s_{bl} . Finalmente, la pendiente de la Ecuación 1-2 y S_m se utilizan para calcular c_m que se define como límite de detección, y cuya ecuación es:

$$c_m = \frac{S_m - \bar{S}_{bl}}{m} \quad (1-5)$$

Como ha indicado Ingle³, para determinar el valor de k en la Ecuación 1-4 se han usado numerosas alternativas, relacionadas correcta o incorrectamente con los estadísticos t y z (Apartado a1B-2, Apéndice 1). Kaiser⁴ argumenta que un valor razonable para la constante es $k = 3$. Considera que es incorrecto suponer una distribución estrictamente normal de los resultados a partir de las medidas del blanco, y que cuando $k = 3$, el nivel de confianza de la detección será de un 95 por 100 en la mayoría de los casos. Asimismo considera poco ventajoso usar un valor mayor de k y por tanto un mayor nivel de confianza. Long y Winefordner⁵, en un estudio sobre límites de detección, también recomiendan la utilización de $k = 3$.

³ J. D. Ingle Jr., *J. Chem. Educ.*, **1970**, 42, 100.

⁴ H. Kaiser, *Anal. Chem.*, **1987**, 42, 53A.

⁵ G. L. Long y J. D. Winefordner, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 712A.

EJEMPLO 1-1

Los datos obtenidos en la calibración para determinar plomo a partir de su espectro de emisión de llama se analizaron por mínimos cuadrados y la ecuación obtenida fue

$$S = 1,12 c_{pb} + 0,312$$

siendo c_{pb} la concentración de plomo en partes por millón y S la señal de la intensidad relativa de la línea de emisión del plomo. Se obtuvieron los siguientes resultados en los replicados:

Conc. Pb en ppm	N.º de replicados	Valor medio de S	s
10,0	10	11,62	0,15
1,00	10	1,12	0,025
0,000	24	0,0296	0,0082

Calcular (a) la sensibilidad de calibrado, (b) la sensibilidad analítica para 1 ppm y para 10 ppm de Pb y (c) el límite de detección.

- (a) Por definición, la sensibilidad de calibrado m es la pendiente de la recta. Por tanto, $m = 1,12$.
 (b) Para 10 ppm de Pb, $\gamma = m/s_s = 1,12/0,15 = 7,5$.
 Para 1 ppm de Pb, $\gamma = 1,12/0,025 = 45$.
 (c) Aplicando la Ecuación 1-4,

$$S_m = 0,0296 + 3 \times 0,0082 = 0,054$$

Sustituyendo en la Ecuación 1-5 resulta

$$c_m = \frac{0,054 - 0,0296}{1,12} = 0,022 \text{ ppm de Pb.}$$

Intervalo lineal

La Figura 1-7 ilustra la definición del *intervalo lineal* de un método analítico, que va desde la concentración más pequeña a la que se puede realizar en medidas cuantitativas (límite de cuantificación, LOQ) hasta la concentración a la que la curva de calibrado se desvía de la linealidad (límite de linealidad, LOL). Para las medidas cuantitativas se toma como límite inferior, en general, la que corresponde a diez veces la desviación estándar de las medidas repetidas en un blanco o $10s_{bl}$. En este punto, la des-

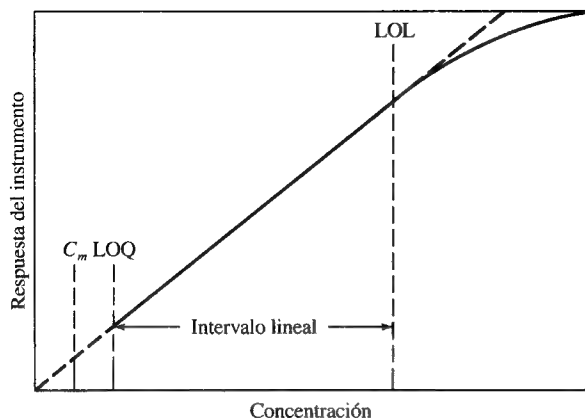


Figura 1-7. Intervalo lineal de un método analítico. LOQ = límite de cuantificación; LOL = límite de linealidad.

viación estándar relativa es del orden de un 30 por 100 y disminuye con rapidez cuando las concentraciones aumentan. En el límite de detección, la desviación estándar relativa es del 100 por 100.

Para que un método analítico sea útil, debe tener un intervalo lineal de, al menos, dos órdenes de magnitud. Algunos métodos tienen un intervalo de concentración aplicable de cinco a seis órdenes de magnitud.

Selectividad

La selectividad de un método analítico indica el grado de ausencia de interferencias con otras especies que contiene la matriz de la muestra. Desafortunadamente, ningún método analítico está totalmente libre de esas interferencias y, con frecuencia, hay que realizar diversas etapas para minimizar sus efectos.

Considérese, por ejemplo, una muestra que contiene un analito A así como dos especies potencialmente interferentes B y C. Si c_A , c_B y c_C son las concentraciones de las tres especies, y m_A , m_B y m_C corresponden a su sensibilidad de calibrado, la señal total del instrumento vendrá dada por una versión modificada de la Ecuación 1-3, esto es

$$S = m_A c_A + m_B c_B + m_C c_C + S_{bl} \quad (1-6)$$

Se define ahora el coeficiente de selectividad de B respecto a A como

$$k_{B,A} = m_B/m_A \quad (1-7)$$

El coeficiente de selectividad indica, por tanto, la respuesta relativa del método para la especie B cuando se compara con A. Un coeficiente similar para C con respecto a A será

$$k_{C,A} = m_C/m_A \quad (1-8)$$

La sustitución de estas relaciones en la Ecuación 1-4 conduce a

$$S = m_A(c_A + k_{B,A}c_B + k_{C,A}c_C) + S_{bl} \quad (1-9)$$

Los coeficientes de selectividad pueden variar desde cero (no hay interferencia) hasta valores bastante superiores a uno. Hay que tener en cuenta que un coeficiente es negativo cuando la interferencia causa una reducción en la intensidad de la señal del analito. Por ejemplo, si la presencia de un interferente B causa una reducción de S en la Ecuación 1-7, m_B tendrá signo negativo, al igual que $k_{A,B}$.

Los coeficientes de selectividad son parámetros de calidad útiles para informar sobre la selectividad de los métodos analíticos. Lamentablemente no se usan mucho excepto para caracterizar el funcionamiento de los electrodos selectivos de iones (Capítulo 23). El Ejemplo 1-2 ilustra el uso de los coeficientes de selectividad cuando se dispone de ellos.

EJEMPLO 1-2

El coeficiente de selectividad para un electrodo selectivo de iones de K^+ con respecto a Na^+ es de 0,052. Calcular el error relativo en la determinación de K^+ de una disolución que tiene una concentración $3,00 \times 10^{-3}$ M de K^+ si la concentración de Na^+ es (a) $2,00 \times 10^{-2}$ M; (b) $2,00 \times 10^{-3}$ M; (c) $2,00 \times 10^{-4}$ M. Suponer que S_{bl} para una serie de blancos es aproximadamente cero.

(a) Sustituyendo en la Ecuación 1-9 resulta

$$S = m_{K^+}(c_{K^+} + k_{Na^+,K^+}c_{Na^+}) + 0$$

$$\begin{aligned} S/m_{K^+} &= 3,00 \times 10^{-3} + 0,052 \times 2,00 \times 10^{-2} \\ &= 4,04 \times 10^{-3} \end{aligned}$$

Si no hubiera Na^+

$$S/m_{K^+} = 3,00 \times 10^{-3}$$

El error relativo en c_{K+} será idéntico al error relativo en S/m_K , (véase Apartado a1B-5, Apéndice 1). En consecuencia,

$$E_{\text{rel}} = \frac{4,04 \times 10^{-3} - 3,00 \times 10^{-3}}{3,00 \times 10^{-3}} \times 100\% = 35\%$$

Operando de la misma forma se obtiene

(b) $E_{\text{rel}} = 3,5 \%$

(c) $E_{\text{rel}} = 0,35 \%$

1E. CALIBRACIÓN DE LOS MÉTODOS INSTRUMENTALES

Todos los métodos instrumentales, excepto dos, requieren una calibración, proceso que relaciona la señal analítica medida con la concentración del analito⁶. Los tres métodos más frecuentemente utilizados para la calibración son: la realización y el uso de una curva de calibrado, el método de la adición estándar y el método del patrón interno.

1E-1. Curvas de calibrado

Para realizar el método de la curva de calibrado se introducen en el instrumento varios patrones que contienen concentraciones exactamente conocidas del analito y se registra la señal instrumental. Normalmente esta señal se corrige con la correspondiente señal obtenida con el blanco. En condiciones ideales el blanco contiene todos los componentes de la muestra original excepto el analito. Los datos obtenidos se representan para obtener una gráfica de la señal corregida del instrumento frente a la concentración de analito.

La Figura 1-8 muestra una *curva de calibrado* característica (también denominada *curva patrón* o *curva analítica*). A menudo se obtienen representaciones gráficas como ésta que son lineales en un amplio intervalo de concentración (*intervalo útil*) lo cual es deseable, ya que están menos sujetas a error que las curvas no lineales. Sin embargo, no es raro encontrar representaciones gráficas no lineales, las cua-

les requieren un elevado número de datos de calibrado para establecer con precisión la relación entre la respuesta del instrumento y la concentración. Se obtiene la ecuación de la curva de calibrado por el método de mínimos cuadrados (Apéndice a1C), que permite calcular directamente la concentración de las muestras.

El éxito del método de la curva de calibrado depende, en gran medida, de la exactitud que tengan la concentración de los patrones y de lo que se parezca la matriz⁷ de los patrones a la de las muestras que se analizan. Lamentablemente reproducir la matriz de muestras complejas suele ser difícil o imposible y sus efectos dan lugar a errores por interferencias. Para minimizarlas, a menudo, es necesario separar el analito del *interferente* antes de medir la señal del instrumento.

1E-2. Método de la adición estándar

El método de la adición estándar es especialmente útil para analizar muestras complejas en las que la probabilidad de que se produzcan efectos debidos a la matriz es considerable. Este método puede aplicarse de diferentes formas⁸. Una de las más habituales implica la adición de diferentes volúmenes de una disolución patrón a varias alícuotas de la muestra del mismo tamaño. Este proceso se conoce como adición de muestra (*spiking*). Después, cada disolución se diluye a un volumen fijo antes de efectuar la medida. Hay que tener en cuenta que cuando la cantidad de muestra es limitada, las adiciones estándar se pueden llevar a cabo por adiciones sucesivas de volúmenes del patrón a un único volumen del problema exactamente medido. Las medidas, se van haciendo en la muestra original y después de cada adición del patrón en la muestra. En la mayoría de las versiones del método de la adición estándar, la matriz de la muestra es casi idéntica después de cada adición y la única diferencia es la concentración de analito, o la concentración de reactivo en el caso de que se añada un exceso de un reactivo analítico. Como los patrones se preparan en alícuotas de la muestra, todos los demás componentes de la mezcla de la reacción serán iguales.

⁶ Las dos excepciones son, el método gravimétrico y el coulombimétrico. En ambos casos, la relación entre la cantidad medida y la concentración de analito se puede determinar a partir de las constantes físicas conocidas con exactitud.

⁷ El término *matriz* se refiere al conjunto de los distintos componentes que constituyen una muestra analítica. La matriz incluye, además del analito, todos los demás componentes de la muestra, a los que, a veces, se les llama *concomitantes*.

⁸ Véase M. Bader, *J. Chem. Educ.*, **1980**, 57, 703.

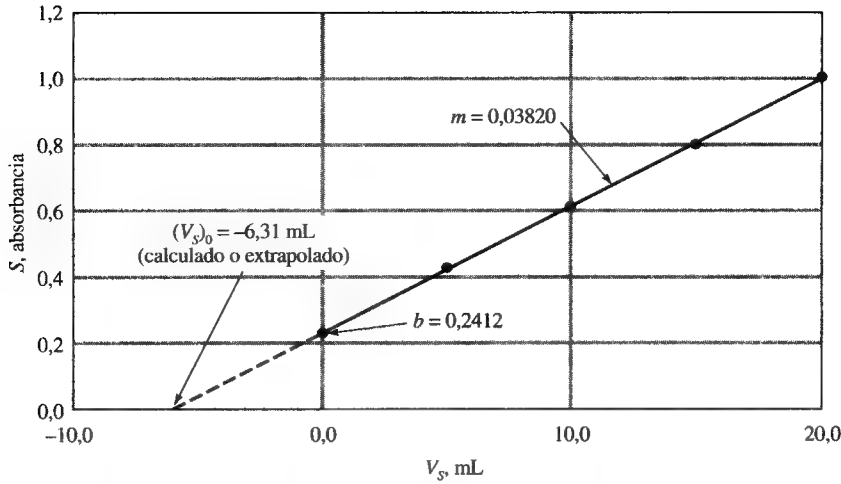


Figura 1-8. Representación gráfica de la recta de calibrado en un método de adición estándar. La concentración de la disolución problema se puede calcular a partir de la pendiente m y de la intersección b , también se puede determinar por extrapolación como se indica en el texto.

En este método varias alícuotas idénticas V_x de la disolución problema con una concentración c_x se transfieren a matraces aforados de volumen V_r . A cada uno de ellos, se le añade un volumen variable (V_s , mL) de una disolución patrón del analito que tiene una concentración conocida c_s . Se añaden entonces los reactivos adecuados y cada disolución se diluye hasta un volumen determinado. Se realizan las medidas instrumentales en cada una de esas disoluciones dando una señal S en el instrumento. Si la respuesta del instrumento es proporcional a la concentración, como debe ser para que el método de la adición estándar sea aplicable, se puede escribir que:

$$S = \frac{kV_sc_s}{V_t} + \frac{kV_xc_x}{V_t} \quad (1-10)$$

donde k es una constante de proporcionalidad. La representación de S , en función de V_s , es una línea recta de la forma

$$S = mV_s + b$$

donde la pendiente m y la ordenada en el origen b vienen dadas por

$$m = \frac{kc_s}{V_t}$$

y

$$b = \frac{kV_xc_x}{V_t}$$

Tal como se ha representado en la Figura 1-8.

Para determinar m y b puede utilizarse un tratamiento por mínimos cuadrados (Apartado a1C, Apéndice 1); c_x se puede obtener a partir de la relación entre estas dos cantidades y los valores conocidos de c_s , V_x y V_s . Así,

$$\frac{b}{m} = \frac{kV_xc_x/V_t}{kc_s/V_t} = \frac{V_xc_x}{c_s}$$

o

$$c_x = \frac{bc_s}{mV_x} \quad (1-11)$$

Se puede obtener el valor de la desviación estándar en c_x , suponiendo que las incertidumbres en c_s , V_s y V_r son despreciables con respecto a las de m y b . Entonces, la varianza relativa del resultado $(s_c/c_x)^2$ se toma como la suma de las varianzas relativas de m y b . Esto es,

$$\left(\frac{s_c}{c_x}\right)^2 = \left(\frac{s_m}{m}\right)^2 + \left(\frac{s_b}{b}\right)^2$$

donde s_m es la desviación estándar de la pendiente y s_b es la desviación estándar de la ordenada en el origen. La raíz cuadrada de esta ecuación da:

$$s_c = c_x \sqrt{\left(\frac{s_m}{m}\right)^2 + \left(\frac{s_b}{b}\right)^2} \quad (1-12)$$

También se puede dibujar manualmente una gráfica de los datos, y la parte recta de la misma se extrapola hasta el origen como se muestra en la línea de puntos de la Figura 1-8. La diferencia entre el volumen añadido de patrón en el origen (cero) y el valor del volumen en el punto de intersección de la línea recta con el eje de las x ($V_x)_0$, es el volumen de patrón que equivale a la cantidad de analito en la muestra.

Además, la intersección con el eje de las x corresponde a la señal cero del instrumento, así que se puede considerar:

$$S = \frac{kV_s c_s}{V_t} + \frac{kV_x c_x}{V_t} = 0 \quad (1-13)$$

Resolviendo esta Ecuación 1-13 para c_x se obtiene:

$$c_x = -\frac{(V_s)_0 c_s}{V_x}$$

EJEMPLO 1-3

Se pipetea varias alícuotas de 10 mL de una muestra de un agua mineral en matraces aforados de 50,00 mL. A cada uno se adicionan exactamente 0,00; 5,00; 10,00; 15,00 y 20,00 mL de una disolución patrón que contiene 11,1 ppm de Fe^{3+} seguido de un exceso de ion tiocianato para dar el complejo rojo $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$ y se enrasan hasta 50,00 mL. Las señales del fotómetro para las cinco disoluciones fueron 0,240; 0,437; 0,621; 0,809 y 1,009, respectivamente (a) ¿Qué concentración de Fe^{3+} hay en la muestra de agua? (b) Calcular la desviación estándar de la pendiente, de la ordenada en el origen y de la concentración de Fe^{3+} .

- (a) En este problema, $c_s = 11,1$ ppm, $V_x = 10,00$ mL y $V_t = 50,00$ mL. La representación de los datos, que aparece en la Figura 1-8, demuestra que existe una relación lineal entre la respuesta del instrumento y la concentración de hierro.

Para obtener la ecuación de la recta de la Figura 1-8 ($S = mV_s + b$), se sigue el procedimiento del Ejemplo a1-12 del Apéndice 1. Los resultados son $m = 0,03820$ y $b = 0,2412$, y por tanto

$$S = 0,03820 V_s + 0,2412$$

Sustituyendo en la Ecuación 1-11 se obtiene

$$c_x = \frac{0,2412 \times 11,1}{0,03820 \times 10,00} = 7,01 \text{ ppm de } \text{Fe}^{3+}$$

Este valor se puede determinar por extrapolación en la gráfica como también se aprecia en la figura. El valor extrapolado representa el volumen de reactivo que corresponde a una señal en el instrumento y que en este caso es de $-6,31$ mL. La concentración desconocida de analito en la disolución original se puede calcular como sigue:

$$c_x = -\frac{(V_s)_0 c_s}{V_x} = \frac{6,31 \text{ mL} \times 11,1 \text{ ppm}}{10,00 \text{ mL}} = 7,01 \text{ ppm } \text{Fe}^{3+}$$

- (b) Las Ecuaciones a1-35 y a1-36 dan la desviación estándar de la ordenada en el origen y de la pendiente. Que son, $s_b = 3,8 \times 10^{-3}$ y $s_m = 3,1 \times 10^{-4}$.

Sustituyendo en la Ecuación 1-12 se obtiene

$$s_c = 7,01 \sqrt{\left(\frac{3,82 \times 10^{-3}}{0,2412}\right)^2 + \left(\frac{3,07 \times 10^{-4}}{0,0382}\right)^2} = 0,12 \text{ ppm } \text{Fe}^{3+}$$

Con el objeto de ahorrar tiempo o muestra, es posible realizar el método de la adición estándar utilizando solamente dos volúmenes de muestra, y en este caso se hará una única adición, de V_s mL del patrón a una de las dos muestras y entonces:

$$S_1 = \frac{kV_x c_x}{V_t}$$

$$S_2 = \frac{kV_x c_x}{V_t} + \frac{kV_s c_s}{V_t}$$

donde S_1 y S_2 son las señales analíticas de la muestra diluida y de la muestra diluida más patrón añadido,

respectivamente. Dividiendo la segunda ecuación por la primera, después de reordenar se obtiene

$$c_x = \frac{S_1 c_s V_s}{(S_2 - S_1) V_x}$$

1E-3. Método del patrón interno

En un análisis, un *patrón interno* es una sustancia que se añade a todas las muestras, blancos y patrones de calibrado en una cantidad fija. También puede ser un componente mayoritario de las muestras y los patrones pero que está en una concentración lo suficientemente elevada como para que se pueda considerar que es la misma en todos los casos. En este caso el calibrado es una representación gráfica del cociente entre la señal del analito y la señal del patrón interno en función de la concentración de analito de los patrones. En las muestras, este cociente se utiliza para determinar la concentración de analito a partir de la curva de calibrado.

Si se elige y se usa adecuadamente un patrón interno, se pueden compensar algunos errores aleatorios o sistemáticos. Así, si las señales del analito y del patrón interno tienen una respuesta proporcional al error aleatorio instrumental y a las fluctuaciones del método, la relación entre dichas señales es independiente de dichas fluctuaciones. Si ambas señales se modifican de la misma forma por el efecto de la matriz, también se compensan en ambas dichos efectos. Cuando el patrón interno es el componente mayoritario de las muestras y de los patrones, también puede suceder que se compensen los errores que se producen en la preparación de la muestra, disolución y filtrado.

La mayor dificultad para aplicar el método del patrón interno es encontrar la sustancia adecuada que sirva a estos efectos, así como para incorporarla a las muestras y a los patrones de forma reproducible. El patrón interno deberá dar una señal similar a la del analito en la mayoría de los casos pero lo suficientemente diferente como para que ambas señales sean claramente diferenciables por el instrumento. Se debe asegurar la ausencia de patrón interno en la matriz de la muestra de tal forma que la única procedencia del patrón sea la cantidad añadida. Por ejemplo, el litio es un patrón interno adecuado para las determinaciones de sodio o potasio en suero sanguíneo, debido a que el comportamiento químico del litio es similar al de ambos analitos pero no aparece de forma natural en la sangre.

Por ejemplo, el método del patrón interno se utiliza, con frecuencia, para la determinación de elementos traza en metales por espectroscopia de emisión. Así, para determinar las partes por millón de antimonio y estaño contenidas en plomo utilizado para la fabricación de acumuladores, se compara la intensidad relativa de la línea más intensa de cada uno de los elementos minoritarios con la intensidad de una línea débil del plomo. En general estas relaciones estarán menos afectadas por las variables que surgen como consecuencia de las muestras que emiten radiación. En el desarrollo de cualquier nuevo método de patrón interno, se debe verificar que los cambios en la concentración del analito no afectan a la intensidad de la señal que procede del patrón interno. Para garantizar que el procedimiento sea satisfactorio se requiere dedicar bastante tiempo y esfuerzo a la preparación de un conjunto de muestras de plomo puro que contengan concentraciones exactamente conocidas de antimonio y estaño.

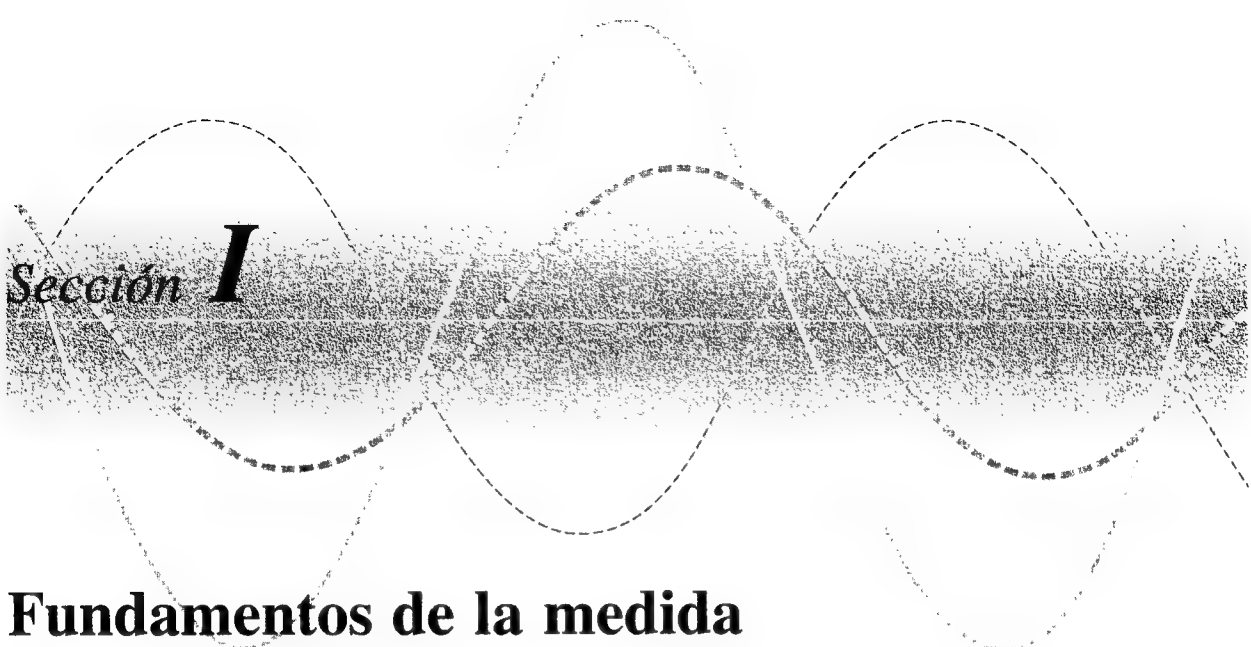
1F. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 1-1. ¿Qué es un transductor en un instrumento analítico?
- 1-2. ¿En qué consiste el procesador de señales de un instrumento para medir visualmente el color de una disolución?
- 1-3. ¿Cuál es el detector en un espectrógrafo en el que las líneas espectrales se registran fotográficamente?
- 1-4. ¿Cuál es el transductor en un detector de humo?

- 1-5. ¿Qué es un dominio de los datos?
- 1-6. ¿Qué son los dominios analógicos? ¿Qué información se codifica en ellos?
- 1-7. Nombrar 4 transductores y describir su funcionamiento
- 1-8. ¿Qué es un parámetro de calidad?
- 1-9. En la calibración de un método instrumental para la determinación de la especie X en disolución acuosa se obtuvieron los siguientes datos

Conc. X, C_x , ppm	N.º de replicados, N	Media de la señal S	Desviación estándar, ppm
0,00	25	0,031	0,0079
2,00	5	0,173	0,0094
6,00	5	0,422	0,0084
10,00	5	0,702	0,0084
14,00	5	0,956	0,0085
18,00	5	1,248	0,0110

- (a) Calcular la sensibilidad de calibrado.
- (b) Calcular la sensibilidad analítica para cada concentración.
- (c) Calcular el coeficiente de variación de la media de cada serie de replicados.
- (d) ¿Cuál es el límite de detección del método?
- 1-10. Una muestra de 25 mL que contiene Cu^{2+} dio una señal instrumental de 23,6 unidades (corregida con el blanco). Cuando se añaden a la disolución 0,500 mL exactamente medidos de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 0,0287 M, la señal aumenta hasta 37,9 unidades. Calcular la concentración molar de Cu^{2+} , suponiendo que la señal es directamente proporcional a la concentración de analito.
- 1-11. En varios matraces aforados de 50,00 mL se midieron, exactamente, alícuotas de 5,0 mL de una disolución de fenobarbital y se llevaron a medio básico con KOH. A cada matraz aforado se añadieron los siguientes volúmenes de una disolución patrón de fenobarbital de 2,000 $\mu\text{g/mL}$: 0,000; 0,500; 1,00; 1,50 y 2,00 mL y se enrasaron. Las señales fluorimétricas de cada una de las disoluciones fueron: 3,26; 4,80; 6,41; 8,02 y 9,56 respectivamente.
- (a) Representar gráficamente los datos.
- (b) Calcular la concentración de fenobarbital de la muestra problema utilizando la representación gráfica (a).
- (c) Obtener por mínimos cuadrados una ecuación para los datos.
- (d) Determinar la concentración de fenobarbital a partir de la ecuación del apartado (c).
- (e) Calcular la desviación estándar de la concentración obtenida en el apartado (d).

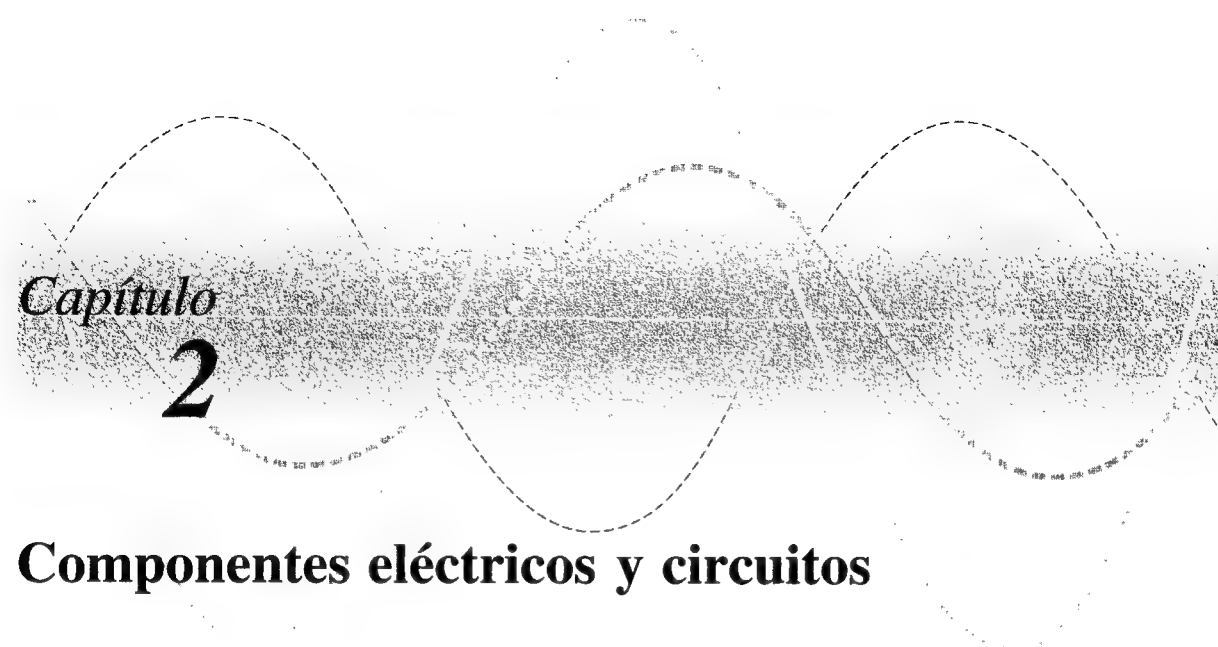


Sección **I**

Fundamentos de la medida

2. Componentes eléctricos y circuitos
3. Los amplificadores operacionales en la instrumentación química
4. Electrónica digital y microordenadores
5. Señales y ruido

En el Capítulo 1 se sentaron las bases para el estudio del análisis químico instrumental. En los cuatro capítulos de la Sección I se presentan los conceptos básicos de electrónica analógica, electrónica digital, ordenadores y tratamiento de datos que son esenciales para comprender cómo se realizan las medidas instrumentales. El Capítulo 2 aporta una breve introducción a los componentes y principios de funcionamiento de circuitos básicos analógicos de corriente continua y alterna. El Capítulo 3 continúa el estudio en el dominio analógico presentando los principios de funcionamiento y algunos ejemplos útiles de circuitos con amplificadores operacionales. La electrónica digital y la frontera entre el dominio analógico y el dominio digital se tratan en el Capítulo 4, así como la naturaleza de los ordenadores y su papel en el análisis instrumental. En el Capítulo 5 se completa el estudio de los fundamentos de la medida examinando la naturaleza de las señales y el ruido, así como los métodos de hardware y software que permiten incrementar la relación señal-ruido.



Capítulo 2

Componentes eléctricos y circuitos

En el Capítulo 1 se ha introducido el concepto de dominio de los datos y señalado que los instrumentos modernos funcionan sobre la base de convertir los datos de un dominio a otro. La mayoría de estas conversiones se dan entre dominios eléctricos. Para comprender estas conversiones y, por tanto, cómo funcionan los modernos instrumentos electrónicos, son necesarios algunos conocimientos básicos acerca de los componentes de circuitos de corriente continua (cc) y de corriente alterna (ca). El objetivo de este capítulo es repasar estos temas como preparación para los dos siguientes capítulos, donde se tratan los circuitos integrados y microordenadores en instrumentación para análisis químico. Con estas nociones se entenderán las funciones de los diferentes sistemas y métodos de medida estudiados en este texto, de aquí en adelante.

2A. CIRCUITOS Y MEDIDAS EN CORRIENTE CONTINUA

En este apartado se consideran algunos circuitos sencillos de corriente continua, y su uso para realizar medidas de intensidad de corriente, tensión y

resistencia. Una definición general de *circuito* puede ser la de un camino cerrado que puede seguir la corriente eléctrica. Se inicia el estudio con el repaso de cuatro importantes leyes de la electricidad.

2A-1. Leyes de la electricidad

Ley de Ohm

La ley de Ohm describe la relación existente entre el potencial, la resistencia y la intensidad de un *circuito en serie* resistivo. En un circuito en serie, todos los elementos del mismo están conectados consecutivamente a lo largo de un único camino, como muestran la batería y las tres resistencias de la Figura 2-1. La ley de Ohm se puede escribir de la siguiente forma

$$V = IR \quad (2-1)$$

donde V es la diferencia de potencial entre dos puntos del circuito en voltios, R es la resistencia entre los dos puntos en ohmios e I es la intensidad de corriente resultante en amperios¹.

¹ En la mayor parte del texto, el símbolo V se utilizará para describir la diferencia de potencial eléctrico en los circuitos. En los Capítulos 22 a 24, se seguirá la notación electroquímica en la que la fuerza electromotriz se denomina E .

Leyes de Kirchhoff

La ley de Kirchhoff de intensidades establece que la suma algebraica de las intensidades en cualquier nudo de un circuito es igual a cero. La ley de Kirchhoff de tensiones establece que la suma algebraica de las tensiones a lo largo de cualquier malla cerrada es igual a cero.

La aplicación de las leyes de Kirchhoff y de Ohm a circuitos sencillos de corriente continua se considera en el Apartado 2A-2.

Ley de la potencia

La potencia P , en vatios, disipada en un elemento resistivo viene dada por el producto de la intensidad de corriente, en amperios, multiplicada por la diferencia de potencial, en bornes, en voltios de dicha resistencia:

$$P = IV \quad (2-2)$$

Introduciendo la ley de Ohm resulta

$$P = I^2 R = V^2 / R \quad (2-3)$$

2A-2. Circuitos sencillos de corriente continua

En este apartado se describen dos tipos de circuitos sencillos de corriente continua, denominados *circuitos en serie resistivos* y *circuitos en paralelo resistivos* y se analizan sus propiedades con la ayuda de las leyes que se han descrito en el apartado anterior.

Circuitos en serie

La Figura 2-1 muestra un circuito sencillo en serie, que consta de una batería, un interruptor y tres resistencias en serie. Si se aplica la ley de Kirchhoff de intensidades al nudo D de este circuito resulta

$$I_4 - I_3 = 0$$

o

$$I_4 = I_3$$

Obsérvese que la intensidad que sale de D debe ser de signo opuesto a la intensidad de entrada para que la suma sea cero. De manera similar, la aplicación de esta ley al punto C da

$$I_3 = I_2$$

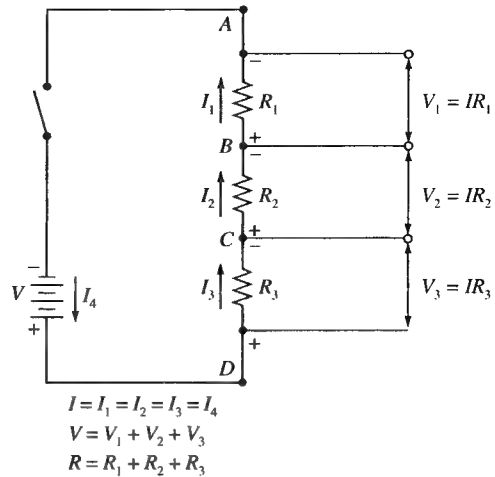


Figura 2-1. Resistencias en serie; un divisor de tensión. La intensidad a través de cada resistencia es la misma en un circuito en serie.

Por tanto, *la intensidad en todos los puntos del circuito en serie es la misma*; esto es

$$I = I_1 = I_2 = I_3 = I_4 \quad (2-4)$$

De la aplicación de la ley de Kirchhoff de tensiones al circuito de la Figura 2-1 resulta

$$V - V_3 - V_2 - V_1 = 0$$

o

$$V = V_1 + V_2 + V_3 \quad (2-5)$$

Obsérvese que el punto D es positivo respecto del punto C , que a su vez es positivo respecto del punto B ; por último, B es positivo respecto de A . Las tres tensiones se oponen a la tensión de la batería y deben llevar signos opuestos a V .

Introduciendo la ley de Ohm en la Ecuación 2-5 resulta

$$V = I(R_1 + R_2 + R_3) = IR_s \quad (2-6)$$

Obsérvese que la *resistencia total R_s de un circuito en serie es igual a la suma de las resistencias de los componentes individuales*, o

$$R_s = R_1 + R_2 + R_3 \quad (2-7)$$

Aplicando la ley de Ohm a la parte del circuito comprendida entre los puntos B y A se obtiene

$$V_1 = I_1 R_1 = IR_1$$

Dividiendo por la Ecuación 2-6 resulta

$$\frac{V_1}{V} = \frac{IR_1}{I(R_1 + R_2 + R_3)}$$

o

$$V_1 = \frac{VR_1}{R_1 + R_2 + R_3} = V\left(\frac{R_1}{R_s}\right) \quad (2-8)$$

De manera similar se puede escribir también

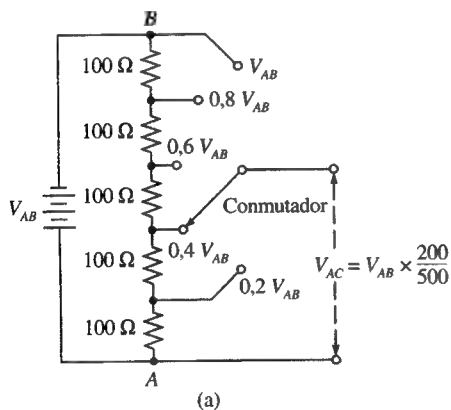
$$V_2 = VR_2/R_s$$

y

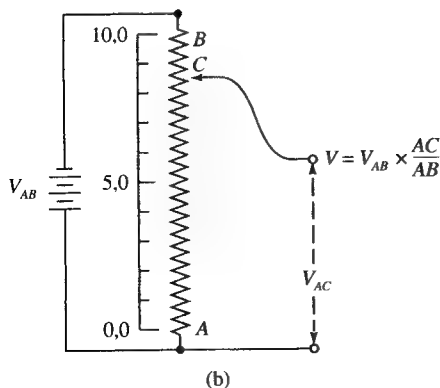
$$V_3 = VR_3/R_s$$

Divisores de tensión

Las resistencias en serie se usan mucho en los circuitos eléctricos para proporcionar potenciales variables que son función de la tensión de entrada. A los dispositivos de este tipo se les denomina *divisores de tensión*. Tal como se muestra en la Figura 2-2a, uno de estos divisores de tensión propor-



(a)



(b)

Figura 2-2. Divisores de tensión: (a) de tipo selector y (b) de tipo variable en forma continua (potenciómetro).

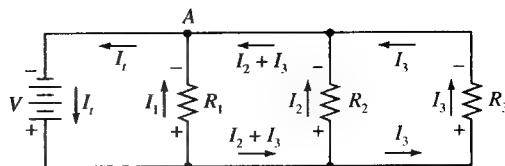


Figura 2-3. Resistencias en paralelo. La tensión en bornes de cada resistencia es igual a V , la tensión de la batería.

ciona las tensiones en forma de incrementos discretos; el segundo tipo (Fig. 2-2b), denominado *potenciómetro*², proporciona una tensión variable en forma continua.

En la mayoría de potenciómetros como el de la Figura 2-2b, la resistencia es lineal, esto es, la resistencia entre un extremo A y cualquier punto C es directamente proporcional a la longitud AC de esta porción de resistencia. Entonces $R_{AC} = kAC$ donde AC viene expresada en las unidades de longitud adecuadas y k es una constante de proporcionalidad. De forma similar, $R_{AB} = kAB$. Combinando estas dos relaciones con la Ecuación 2-8 se obtiene

$$V_{AC} = V_{AB} \frac{R_{AC}}{R_{AB}} = V_{AB} \frac{AC}{AB} \quad (2-9)$$

En los potenciómetros comerciales, R_{AB} suele ser un hilo resistivo enrollado en forma helicoidal. Un contacto móvil, denominado *cursor*, que puede moverse de un extremo a otro del helicoide, permite que V_{AC} pueda variar de forma continua desde cero hasta V_{AB} .

Circuitos en paralelo

La Figura 2-3 muestra un circuito de corriente continua *en paralelo*. Si se aplica la ley de Kirchhoff de intensidades al punto A de esta figura, se obtiene

$$I_1 + I_2 + I_3 - I_t = 0$$

o

$$I_t = I_1 + I_2 + I_3 \quad (2-10)$$

Aplicando la ley de Kirchhoff de tensiones a este circuito resultan tres ecuaciones independientes.

² La palabra *potenciómetro* también se utiliza en un contexto diferente, refiriéndose en ese caso a un instrumento completo que utiliza un divisor lineal de tensión para medir potenciales con exactitud.

Así, para la malla que contiene la batería y R_1 , se puede escribir

$$V - I_1 R_1 = 0$$

$$V = I_1 R_1$$

Para la malla que contiene V y R_2

$$V = I_2 R_2$$

Para la malla que contiene V y R_3 ,

$$V = I_3 R_3$$

Se podrían escribir también ecuaciones similares para la malla que contiene R_1 y R_2 , así como para la que contiene R_2 y R_3 . Sin embargo, estas ecuaciones no serían independientes de las tres anteriores. Introduciendo las tres ecuaciones independientes en la Ecuación 2-10 resulta

$$I_t = \frac{V}{R_p} = \frac{V}{R_1} + \frac{V}{R_2} + \frac{V}{R_3}$$

Dividiendo esta ecuación por V , se obtiene

$$\frac{1}{R_p} = \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} + \frac{1}{R_3} \quad (2-11)$$

Como la conductancia de una resistencia R viene dada por $G = 1/R$, se puede escribir

$$G_p = G_1 + G_2 + G_3 \quad (2-12)$$

La Ecuación 2-12 muestra que, al revés que en un circuito en serie, en un circuito en paralelo las conductancias G son aditivas en lugar de las resistencias.

Divisores de intensidad en circuitos en paralelo

Así como las resistencias en serie forman divisores de tensión, las resistencias en paralelo crean divisores de intensidad. La fracción de la intensidad total que pasa por R_1 en la Figura 2-3 es

$$\frac{I_1}{I_t} = \frac{V/R_1}{V/R_p} = \frac{1/R_1}{1/R_p} = \frac{G_1}{G_p}$$

$$I_1 = I_t \frac{R_p}{R_1} = I_t \frac{G_1}{G_p} \quad (2-13)$$

Un caso especialmente interesante sucede cuando dos resistencias, R_1 y R_2 , forman un circuito en paralelo. La fracción de la corriente por R_1 viene dada por:

$$\frac{I_1}{I_t} = \frac{G_1}{G_t} = \frac{1/R_1}{1/R_p} = \frac{1/R_1}{1/R_1 + 1/R_2} =$$

$$= \frac{R_2/R_1 R_2}{R_2/R_1 R_2 + R_1/R_1 R_2} = \frac{R_2}{R_1 + R_2}$$

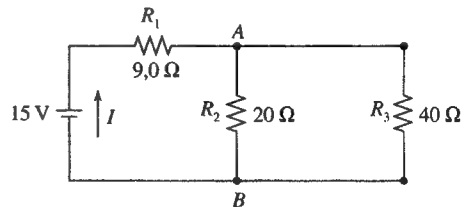
De forma similar se demuestra que

$$\frac{I_2}{I_t} = \frac{R_1}{R_1 + R_2}$$

En resumen, para dos resistencias en paralelo, la fracción de la corriente a través de una resistencia es el cociente entre la segunda resistencia y la suma de la dos resistencias. Esta ecuación se denomina a menudo *ecuación de un divisor de intensidad*.

EJEMPLO 2-1

Para el siguiente circuito, calcular (a) la resistencia total, (b) la intensidad por la batería, (c) la intensidad por cada una de las resistencias y (d) la diferencia de potencial en bornes de cada una de las resistencias.

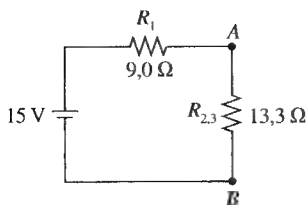


R_2 y R_3 son resistencias en paralelo. La resistencia $R_{2,3}$ entre los puntos A y B vendrá dada por la Ecuación 2-11. Esto es,

$$\frac{1}{R_{2,3}} = \frac{1}{20 \Omega} + \frac{1}{40 \Omega}$$

$$R_{2,3} = 13,3 \Omega$$

El circuito original puede reducirse ahora al *circuito equivalente* siguiente.



En este caso se tiene una resistencia equivalente a las dos resistencias en serie, y

$$R_s = R_1 + R_{2,3} = 9,0 \, \Omega + 13,3 \, \Omega = 22,3 \, \Omega$$

A partir de la ley de Ohm, la intensidad I viene dada por

$$I = 15 \, \text{V} / 22,3 \, \Omega = 0,67 \, \text{A}$$

Utilizando la Ecuación 2-8, la tensión V_1 en bornes de R_1 es

$$V = 15 \, \text{V} \times 9,0 \, \Omega / (9,0 \, \Omega + 13,3 \, \Omega) = 6,0 \, \text{V}$$

De forma similar, la tensión en bornes de las resistencias R_2 y R_3 es

$$\begin{aligned} V_2 = V_3 = V_{2,3} &= 15 \, \text{V} \times 13,3 \, \Omega / 22,3 \, \Omega \\ &= 8,95 \, \text{V} = 9,0 \, \text{V} \end{aligned}$$

Obsérvese que la suma de las dos tensiones es de 15 V, tal como indica la ley de Kirchhoff de tensiones.

La intensidad que pasa por R_1 viene dada por

$$I_1 = I = 0,67 \, \text{A}$$

Las intensidades a través de R_2 y R_3 se obtienen a partir de la ley de Ohm. Así,

$$I_2 = 9,0 \, \text{V} / 20 \, \Omega = 0,45 \, \text{A}$$

$$I_3 = 9,0 \, \text{V} / 40 \, \Omega = 0,22 \, \text{A}$$

Obsérvese que las dos intensidades se suman para dar la intensidad total, tal como indica la ley de Kirchhoff.

2A-3. Medidas de resistencia, tensión e intensidad en corriente continua

En este apartado se considera cómo se miden la corriente, el potencial y la resistencia de los circuitos de corriente continua y las incertidumbres asociadas con dichas medidas.

Voltímetros digitales

Hasta hace unos treinta años las medidas eléctricas de corriente continua se hacían con el medidor de D'Arsonval de cuadro móvil, que se inventó hace más de un siglo. En la actualidad, estos equipos han quedado obsoletos, y se han reemplazado por los omnipresentes voltímetros digitales y multímetros digitales (DVM y DMM).

Un voltímetro digital generalmente consta de un circuito integrado sencillo, de una fuente de alimentación que, con frecuencia, es una batería y de una pantalla digital de cristal líquido. La parte más importante del circuito integrado es el *convertidor analógico-digital*, que transforma la señal de entrada analógica en un número que es proporcional a la magnitud de la tensión de entrada³. En el Apartado 4C-7 se da una explicación de cómo son los convertidores analógico-digitales. Los modernos voltímetros digitales comerciales pueden ser pequeños, suelen ser baratos (por debajo de los 100 \$) y, por lo general, tienen resistencias de entrada elevadas de 10^{10} a $10^{12} \, \Omega$.

La Figura 2-4 muestra cómo se puede usar un voltímetro digital, señalado como DVM, para medir resistencias, intensidades y potenciales en corriente continua. En cada uno de los esquemas, la lectura del voltímetro digital es V_M y la resistencia interna del DVM es R_M . La configuración que se muestra en la Figura 2-4a se utiliza para determinar el potencial desconocido V_x de una fuente de potencial que tiene una resistencia interna R_s . El potencial visualizado en el medidor V_M puede ser algo distinto del verdadero potencial de la fuente debido al *error de carga*, que se estudia en el próximo apartado. Los voltímetros digitales suelen incorporar un divisor de tensión como el de la Figura 2-2a, que les permite operar en diversos intervalos de trabajo.

Los voltímetros digitales también son capaces de medir varios intervalos de corriente. La co-

³ Una señal analógica es aquella que puede variar de forma continua con el tiempo y puede tomar cualquier valor dentro de un cierto intervalo.

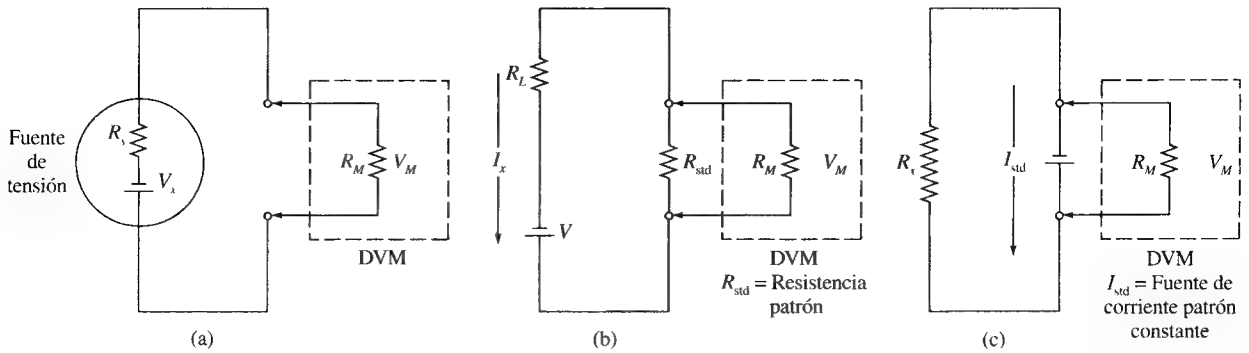


Figura 2-4. Utilizaciones de un voltímetro digital. (a) Medida de la señal de salida V_x de una fuente de tensión. (b) Medida de la intensidad de corriente I_x a través de una resistencia R_L . (c) Medida de la resistencia R_x de un elemento de un circuito desconocido.

corriente a medir pasa a través de una de las pequeñas resistencias estándar situadas en el medidor. Se mide la diferencia de potencial en bornes de esta resistencia, siendo ésta proporcional a la corriente. La Figura 2-4b muestra cómo se mide la intensidad desconocida I_x de un circuito que consta de una fuente de corriente continua y una resistencia R_L . Las resistencias de precisión R_{std} del medidor suelen variar entre unos 0,1 Ω o menos y varios cientos de ohmios, dando lugar, de esta forma, a varios intervalos de corriente. Si, por ejemplo, $R_{std} = 1,000 \Omega$ y la lectura del DVM es de 1,456 V, la corriente medida es 1,456 A. Escogiendo las resistencias estándar en potencias de diez y preparando los circuitos para mover el punto de los decimales de la pantalla, el DVM es capaz de leer la corriente directamente.

La Figura 2-4c muestra cómo se determina una resistencia desconocida R_x con un voltímetro digital moderno. Para este caso, el medidor va equipado con una fuente de corriente continua que produce una intensidad constante I_{std} que pasa a través de la resistencia. Por ejemplo, si la intensidad estándar es 0,0100 A, entonces una lectura en un DVM de 0,945 V supone una resistencia medida de $0,945 \text{ V} / 0,0100 \text{ A} = 94,5 \Omega$. Solamente hay que mover la coma de los decimales para obtener la lectura directa de la resistencia.

Se denomina normalmente *multímetro digital* (DMM) a un instrumento que dispone de circuitos para medida de tensiones, intensidades y resistencias.

Error de carga en las medidas de potencial

Cuando se utiliza un medidor para medir potenciales, la presencia de este medidor tiende a perturbar el circuito, de forma que se introduce un *error de*

carga. Esta situación no es particular de las medidas de tensión. De hecho, es un ejemplo de una limitación fundamental aplicable a cualquier medida física.

Esto es, el proceso de medida altera inevitablemente al sistema en estudio, de manera que la cantidad que se mide en realidad difiere de su valor antes de efectuar la medida. Este tipo de error no se puede eliminar por completo; sin embargo, se puede reducir, a menudo, a proporciones insignificantes.

La magnitud del error de carga de las medidas de potencial depende del cociente entre la resistencia interna del medidor y la resistencia del circuito estudiado. El error de carga relativo en porcentaje E_r asociado con el potencial medido V_M de la Figura 2-4a viene dado por

$$E_r = \frac{V_M - V_x}{V_x} \times 100 \%$$

en la que V_x es la verdadera tensión de la fuente de alimentación. Aplicando la ecuación de un divisor de tensión (Ecuación 2-9), se puede escribir

$$V_M = V_x \left(\frac{R_M}{R_M + R_i} \right)$$

Sustituyendo esta ecuación en la anterior resulta, después de reordenar,

$$E_r = - \frac{R_i}{R_M + R_i} \times 100 \% \quad (2-14)$$

Esta ecuación muestra que el error de carga relativo es cada vez menor cuanto mayor es la resistencia del medidor R_M respecto a la resistencia de

la fuente R_s . La Tabla 2-1 ilustra este efecto. Los voltímetros digitales presentan la gran ventaja de tener resistencias internas enormes de 10^{11} hasta $10^{12} \Omega$, eliminándose así los errores de carga excepto en las medidas de circuitos que tengan resistencias mayores de $10^9 \Omega$. Un ejemplo importante de error de carga puede darse en la medida del potencial de los electrodos de vidrio para la medida del pH, que tienen resistencias de 10^6 a $10^9 \Omega$ o mayores. Los instrumentos como los medidores de pH y los medidores de plon tienen entradas con resistencias muy altas para evitar errores de carga de este tipo.

Sin embargo, se debe tener en cuenta que en un DVM normal utilizado para la medida de tensiones, el divisor de tensión de entrada usado para disponer de diferentes escalas, hace disminuir el valor de la resistencia interna del medidor a valores de $10 \text{ M}\Omega$. Por esta razón, las medidas de tensión de fuentes con resistencias internas mayores de $10 \text{ k}\Omega$, tendrán un error del 0,1 por 100 o mayor, dependiendo de la resistencia interna exacta.

Error de carga de las medidas de intensidad de corriente

Tal como se muestra en la Figura 2-4b, para medir una corriente, se introduce en el circuito una pequeña resistencia estándar de precisión R_{std} . En ausencia de esta resistencia, la intensidad del circuito sería $I = V/R_L$. Con la resistencia R_{std} , sería $I_M = V/(R_L + R_{\text{std}})$. Por tanto, el error de carga viene dado por

$$E_r = \frac{I_M - I_x}{I_x} \times 100\% = \frac{\frac{V}{(R_L + R_{\text{std}})} - \frac{V}{R_L}}{\frac{V}{R_L}} \times 100\%$$

TABLA 2-1. Efecto de la resistencia del medidor en la exactitud de las medidas de potencial*

Resistencia del medidor R_M, Ω	Resistencia de la fuente R_s, Ω	R_M/R_s	Error relativo %
10	20	0,50	-67
50	20	2,5	-29
500	20	25	-3,8
$1,0 \times 10^3$	20	50	-2,0
$1,0 \times 10^4$	20	500	-0,20

* Véase la Figura 2-4a.

Esta ecuación puede simplificarse

$$E_r = -\frac{R_{\text{std}}}{R_L + R_{\text{std}}} \times 100\% \quad (2-15)$$

La Tabla 2-2 revela que el error de carga en las medidas de intensidad se hace cada vez menor cuanto más pequeño es el cociente entre R_{std} y R_L .

2B. CIRCUITOS DE CORRIENTE ALTERNA

La señal eléctrica de salida de los transductores de señales analíticas fluctúa, a menudo, de forma periódica. Estas variaciones pueden representarse (como en la Fig. 2-5) mediante una representación gráfica de la intensidad o del potencial instantáneos en función del tiempo. El *periodo* t_p de la señal es el tiempo necesario para completar un ciclo. La inversa del período es la *frecuencia de la señal* f . O sea,

$$f = 1/t_p \quad (2-16)$$

La unidad de frecuencia es el hercio, Hz, que se define como un ciclo por segundo.

2B-1. Corrientes sinusoidales

La onda sinusoidal (Fig. 2-5A) es el tipo de señal eléctrica periódica más habitual. Un ejemplo muy común es la corriente alterna producida por la rotación de una bobina en un campo magnético (como en un generador eléctrico). Así pues, si se representan gráficamente la intensidad o la tensión producidas por un generador en función del tiempo, se obtiene una onda senoidal.

TABLA 2-2. Efecto de la resistencia estándar, R_{std} , en la exactitud de las medidas de la intensidad de corriente*

Resistencia del circuito R_L, Ω	Resistencia estándar R_{std}, Ω	R_{std}/R_L	Error relativo %
1,0	1,0	1,0	-50
10	1,0	0,10	-9,1
100	1,0	0,010	-0,99
1.000	1,0	0,0010	-0,10

* Véase la Figura 2-4b.

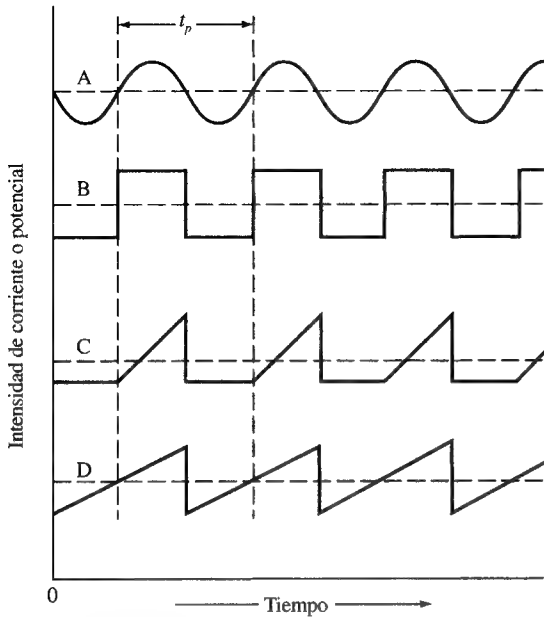


Figura 2-5. Ejemplo de señales periódicas: (A) sinusoidal, (B) onda cuadrada, (C) rampa y (D) dientes de sierra.

Una onda senoidal pura se representa mediante un vector de longitud I_p (o V_p), que gira con una frecuencia angular constante ω en sentido contrario a las agujas del reloj. La relación entre la representación de dicho vector y la de la curva senoidal se muestra en la Figura 2-6. El vector gira a una velocidad de 2π radianes durante un período t_p ; por tanto, la frecuencia angular viene dada por

$$\omega = \frac{2\pi}{t_p} = 2\pi f \quad (2-17)$$

Si el vector representa numéricamente la intensidad o la tensión, la intensidad instantánea i o la tensión instantánea v a un tiempo t vienen determinadas por (véase Fig. 2-6)⁴

$$i = I_p \sin \omega t = I_p \sin 2\pi f t \quad (2-18)$$

⁴ Al considerar la variación temporal, es conveniente simbolizar los valores instantáneos de la intensidad, la tensión o la carga con las letras minúsculas i , v y q . Por otro lado, las letras mayúsculas se usan para los valores estacionarios de la intensidad, la tensión o la carga, o para una cantidad variable definida como la intensidad o la tensión máximas de la oscilación, o sea, V_p e I_p .

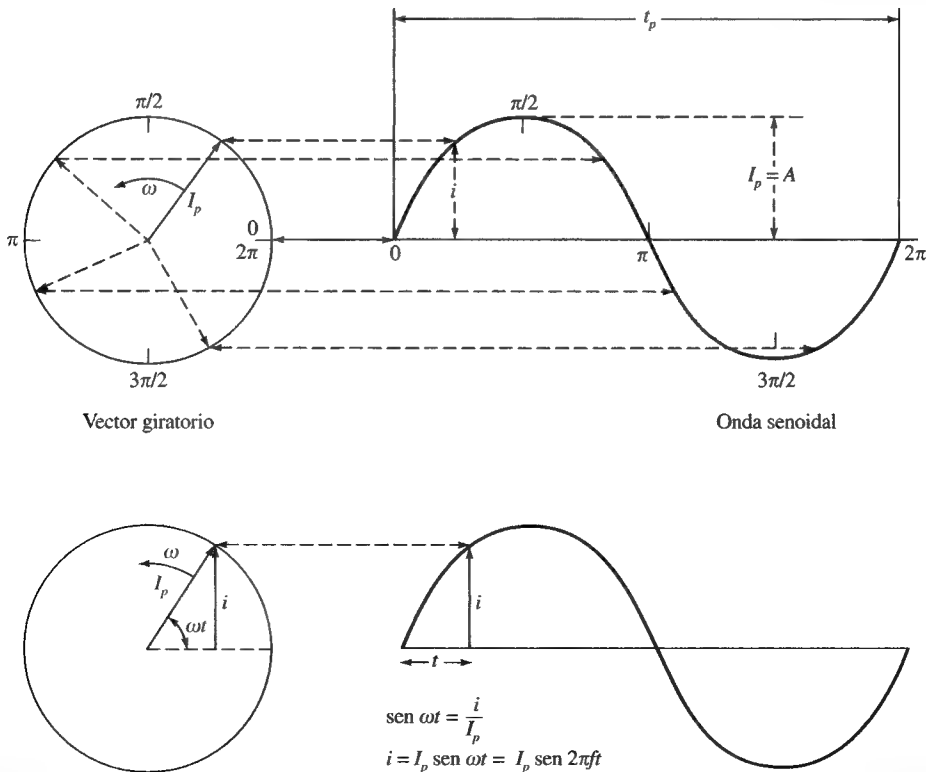


Figura 2-6. Relación entre una onda senoidal con un período t_p y una amplitud I_p y el vector de longitud correspondiente I_p , que gira a una velocidad angular de $\omega = 2\pi f$ radianes/segundo o a una frecuencia de f Hz.

o alternativamente

$$v = V_p \text{ sen } \omega t = V_p \text{ sen } 2\pi ft \quad (2-19)$$

donde I_p y V_p son la intensidad y la tensión correspondiente al máximo, o de pico, y se denominan *amplitud A* de la onda senoidal.

La Figura 2-7 muestra dos ondas senoidales con diferentes amplitudes. Las dos ondas están *desfasadas* 90 grados o $\pi/2$ radianes. La diferencia de fase se denomina *ángulo de fase*, y se produce cuando el primer vector se adelanta o se retrasa respecto al segundo en dicha cantidad. En consecuencia, una ecuación más general para una onda senoidal es

$$i = I_p \text{ sen } (\omega t + \phi) = I_p \text{ sen } (2\pi ft + \phi) \quad (2-20)$$

en la que ϕ es el ángulo de fase respecto a la onda senoidal de referencia. Una ecuación análoga puede escribirse en términos de tensión

$$v = V_p \text{ sen } (2\pi ft + \phi) \quad (2-21)$$

La intensidad o la tensión asociados a una corriente sinusoidal pueden expresarse de diversas maneras. La más sencilla es la amplitud de pico, I_p (o V_p), que constituye el valor máximo instantáneo de la intensidad o de la tensión durante un ciclo; en ocasiones, también se utiliza el valor pico-pico, es decir $2I_p$ o $2V_p$. La *intensidad eficaz ef* [raíz cuadrática media(rms)] de un circuito de corriente alterna producirá el mismo calentamiento en una resistencia que la misma magnitud correspondiente a corriente continua. Así pues, la intensidad eficaz tiene gran importancia en los cálculos de la potencia

(Ecuaciones 2-2 y 2-3). El valor de la corriente eficaz viene dado por

$$I_{ef} = \sqrt{\frac{I_p^2}{2}} = 0,707I_p \quad \text{y} \quad V_{ef} = \sqrt{\frac{V_p^2}{2}} = 0,707V_p \quad (2-22)$$

2B-2. Reactancias en circuitos eléctricos

Siempre que aumenta o disminuye la corriente de un circuito eléctrico se necesita energía suficiente para cambiar los campos eléctricos y magnéticos asociados al movimiento de las cargas. Por ejemplo, si el circuito dispone de una bobina de cobre, o *inductor*, la bobina se opone al cambio en la corriente al almacenarse energía en el campo magnético del inductor. Al invertirse la intensidad, la energía vuelve a la fuente de corriente alterna y cuando se completa la segunda parte del ciclo, la energía se almacena de nuevo en el campo magnético de sentido contrario. De forma similar, un *condensador* en un circuito de corriente alterna se opone al cambio de tensión. La oposición de los inductores al cambio de intensidad y la oposición de los condensadores al cambio de tensión se denomina *reactancia*. Como veremos, las reactancias en los circuitos de corriente alterna introducen desfases en las señales de corriente alterna. Los dos tipos de reactancia que caracterizan a los condensadores o a los inductores son la *reactancia capacitiva* y la *reactancia inductiva*, respectivamente.

Ambas reactancias, capacitiva e inductiva, dependen cuantitativamente de la frecuencia. A baja frecuencia, cuando la velocidad de cambio de la corriente es baja, los efectos de la reactancia de la mayoría de los componentes de un circuito son lo

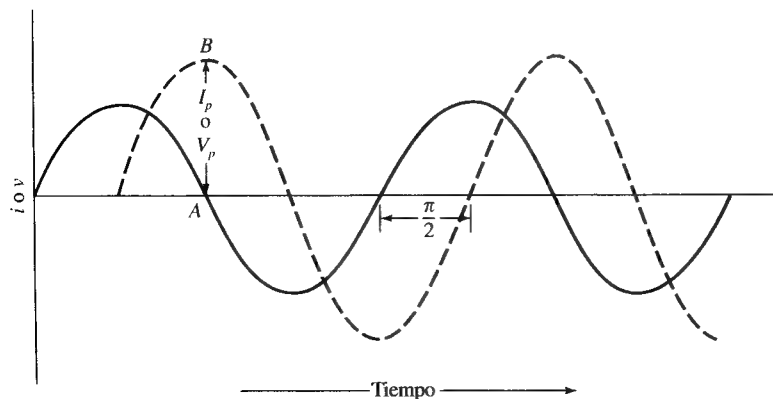


Figura 2-7. Ondas senoidales con diferentes amplitudes (I_p o V_p) y con un desfase de 90° o $\pi/2$ radianes.

suficientemente pequeños como para no tenerlos en cuenta. Por otra parte, cuando las variaciones son rápidas, los diversos elementos del circuito, tales como conmutadores, uniones y resistencias, pueden presentar cierta reactancia. Este tipo de reactancias suelen producir efectos no deseados y hay que hacer todos los esfuerzos posibles para disminuir su magnitud.

A menudo se introducen en un circuito, de forma deliberada, capacitancias e inductancias en forma de *condensadores e inductores*. Estos dispositivos juegan un papel importante en diversas funciones útiles tales como convertir una corriente alterna en continua o viceversa, discriminar entre señales de distinta frecuencia, separar señales de corriente alterna de señales de corriente continua, diferenciar señales o integrar señales.

En los siguientes apartados, se considerarán sólo las propiedades de los condensadores, ya que la mayoría de los circuitos electrónicos modernos disponen de estos dispositivos más que de inductores.

2B-3. Condensadores y capacitancia: circuitos RC en serie

Un condensador típico consiste en un par de conductores separados por una delgada capa de material *dieléctrico*, esto es, un aislante eléctrico que carece esencialmente de especies cargadas móviles capaces de transportar la corriente. El condensador más sencillo consta de dos láminas metálicas separadas por una delgada capa de un dieléctrico como aire, aceite, plástico, mica, papel, cerámica o un óxido metálico. Excepto en el caso de los conden-

sadores de aire y de mica, las dos láminas junto con el aislante se suelen plegar o enrollar en una estructura compacta que se sella para prevenir el deterioro por la acción atmosférica.

Para describir las propiedades de un condensador, considérese el *circuito RC en serie* de la Figura 2-8a, que consta de una batería V_i , de una resistencia R , y de un condensador C en serie. Los condensadores se simbolizan por un par de líneas paralelas de igual longitud.

Cuando el conmutador S se mueve desde la posición 2 hasta la 1, los electrones fluyen desde la terminal negativa de la batería a través de la resistencia R hacia el conductor o *placa* inferior del condensador. Al mismo tiempo, la placa superior repele a los electrones y los dirige hacia la terminal positiva de la batería. Este movimiento constituye una corriente transitoria, que disminuye rápidamente hasta cero cuando se establece una diferencia de potencial entre las dos placas del condensador que alcanza finalmente el valor del potencial de la batería V_i . Cuando cesa la corriente, se dice que el condensador está *cargado*.

Si se cambia el conmutador de la posición 1 a la posición 2, los electrones fluyen desde la placa inferior del condensador cargada negativamente hasta la placa superior cargada positivamente, a través de la resistencia R . De nuevo, este movimiento constituye una corriente que disminuye hasta cero al ir desapareciendo la diferencia de potencial entre las dos placas; se dice, en este caso, que el condensador está *descargado*.

Una propiedad útil de los condensadores es su capacidad de almacenar una carga eléctrica durante un cierto período de tiempo, y cederla cuando sea necesario. Así pues, si, en la Figura 2-8a, pri-

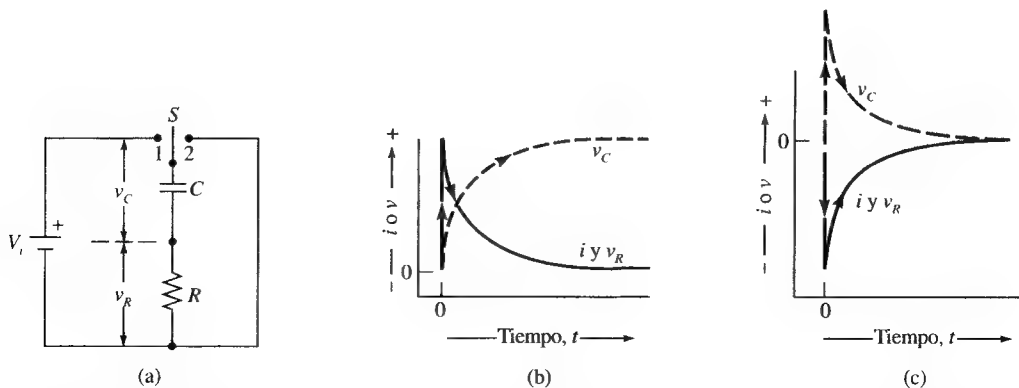


Figura 2-8. (a) Un circuito RC en serie. Respuesta temporal del circuito cuando el conmutador S está (b) en la posición 1 y (c) en la posición 2.

mero se mantiene S en la posición 1 hasta que C se ha cargado, y a continuación se coloca en una posición intermedia *entre* 1 y 2, el condensador permanecerá cargado durante un amplio período de tiempo. Cuando se coloca S en la posición 2, la descarga se produce de la misma forma que si el cambio de 1 a 2 hubiera sido rápido.

La cantidad de electricidad, Q , necesaria para cargar un condensador por completo, depende del área de las placas, de su forma, del espacio entre ellas y de la constante dieléctrica del material que las separa. Además, la carga Q es directamente proporcional a la tensión aplicada. Es decir,

$$Q = CV \quad (2-23)$$

Cuando V es el potencial aplicado en voltios y Q la cantidad de carga en culombios, la constante de proporcionalidad C es la *capacitancia* del condensador en *faradios* F . Por consiguiente, un condensador de un faradio almacena una carga de un culombio por cada voltio aplicado. La mayoría de los condensadores utilizados en los circuitos electrónicos tienen capacitancias del orden de los microfaradios ($10^{-6} F$) hasta los picofaradios ($10^{-12} F$).

La capacitancia es importante en los circuitos de corriente alterna, debido a que una tensión que varía con el tiempo da lugar a una carga variable con el tiempo, esto es, una corriente. Este razonamiento puede verse derivando la Ecuación 2-23, obteniéndose

$$\frac{dq}{dt} = C \frac{dv_C}{dt} \quad (2-24)$$

Por definición, la intensidad de corriente i es la velocidad de variación de la carga; esto es, $dq/dt = i$. Así

$$i = C \frac{dv_C}{dt} \quad (2-25)$$

Es importante destacar que la intensidad de un condensador es cero cuando la tensión es independiente del tiempo, es decir, cuando la tensión en bornes del condensador es constante. Además, hay que tener en cuenta que para conseguir un cambio rápido en la tensión en bornes del condensador es necesaria una intensidad elevada. Esto supone una limitación significativa en algunos métodos electroanalíticos de análisis, como se verá en el Capítulo 25.

Velocidad de variación de la intensidad de corriente en un circuito RC

La velocidad a la que un condensador se carga o descarga es finita. Considérese, por ejemplo, el circuito de la Figura 2-8a. De la ley de Kirchhoff de tensiones se deduce que un instante después de haber colocado el conmutador en la posición 1, la suma de las tensiones en bornes de C y de R (v_C y v_R) debe ser igual a la tensión de entrada V_i . Así

$$V_i = v_C + v_R \quad (2-26)$$

Como V_i es constante, el aumento de v_C que acompaña a la carga del condensador debe compensarse exactamente con una disminución equivalente de v_R .

La sustitución de las Ecuaciones 2-1 y 2-23 en esta ecuación permite obtener, después de reordenar

$$V_i = \frac{q}{C} + iR \quad (2-27)$$

Para poder determinar cómo varía la intensidad de un circuito RC en función del tiempo, se puede diferenciar la Ecuación 2-27 con respecto al tiempo recordando que V_i es constante. Por tanto,

$$\frac{dV_i}{dt} = 0 = \frac{dq/dt}{C} + R \frac{di}{dt} \quad (2-28)$$

De nuevo, en este caso, se usan letras minúsculas para representar los valores instantáneos de la carga y de la corriente.

Como ya se ha indicado, $dq/dt = i$. Sustituyendo esta expresión en la Ecuación 2-28 resulta, después de reordenar

$$\frac{di}{i} = -\frac{dt}{RC}$$

Integrando entre los límites I_{ini} (intensidad inicial) e i se obtiene

$$\int_{I_{ini}}^i \frac{di}{i} = -\int_0^t \frac{dt}{RC} \quad (2-29)$$

y

$$i = I_{ini} e^{-t/RC} \quad (2-30)$$

Esta ecuación muestra que, en un circuito RC , la intensidad de corriente disminuye exponencialmente con el tiempo.

Velocidad de variación de la tensión en un circuito RC

Para obtener una expresión de la tensión instantánea en bornes de la resistencia, v_R , se utiliza la ley de Ohm para sustituir $i = v_R/R$ e $I_{ini} = V_i/R$ en la Ecuación 2-30 y reordenar para conseguir

$$v_R = V_i e^{-t/RC} \quad (2-31)$$

La sustitución de esta expresión en la Ecuación 2-26 da lugar, después de reordenar, a una expresión para la tensión instantánea v_C en el condensador:

$$v_C = V_i(1 - e^{-t/RC}) \quad (2-32)$$

Obsérvese que el producto RC que aparece en las tres últimas ecuaciones tiene unidades de tiempo, ya que $R = v_R/i$ y $C = q/v_C$

$$RC = \frac{v_R}{i} \times \frac{q}{v_C}$$

y

$$\frac{\text{voltios}}{\text{culombios/segundo}} \times \frac{\text{culombios}}{\text{voltios}} = \text{segundos}$$

El producto RC se denomina *constante de tiempo* del circuito, y es la medida del tiempo requerido por el condensador para cargarse o descargarse. Esta dependencia entre el tiempo de carga y RC puede expresarse en forma de cociente a partir de la Ecuación 2-32. Como en esta ecuación el cociente $-t/RC$ es el exponente, RC determina la velocidad de la variación exponencial de la tensión en bornes del condensador.

El siguiente ejemplo ilustra la utilización de las ecuaciones que se acaban de obtener.

EJEMPLO 2-2

Los valores de los componentes de la Figura 2-8a son $V_i = 10,0$ V, $R = 1.000 \Omega$, $C = 1,00 \mu\text{F}$ o $1,00 \times 10^{-6}$ F. Calcular (a) la constante de tiempo del circuito y (b) i , v_C y v_R después de haber transcurrido dos constantes de tiempo ($t = 2RC$).

- (a) Constante de tiempo $= RC = 1.000 \times 1,00 \times 10^{-6} = 1,00 \times 10^{-3}$ s o 1,00 ms.

- (b) Sustituyendo la ley de Ohm, $I_{ini} = V_i/R$ y $t = 2,00$ ms en la Ecuación 2-30 resulta

$$i = \frac{V}{R} e^{-t/RC} = \frac{10,0}{1.000} e^{-2,00/1,00} = 1,35 \times 10^{-3} \text{ A} \quad \text{o} \quad 1,35 \text{ mA}$$

A partir de la Ecuación 2-31 se halla que

$$v_R = 10,0 e^{-2,00/1,00} = 1,35 \text{ V}$$

y sustituyendo en la Ecuación 2-26

$$v_C = V_i - v_R = 10,00 - 1,35 = 10,0(1 - e^{-2,00/1,00}) = 8,65 \text{ V}$$

Relaciones de fase entre la intensidad de corriente y la tensión en un circuito RC

La Figura 2-8b muestra las variaciones en i , v_R y v_C que se producen durante el ciclo de carga de un circuito RC. Estas representaciones gráficas vienen expresadas en unidades arbitrarias dado que la forma de las curvas es independiente de la constante de tiempo del circuito. Obsérvese que v_R e i alcanzan sus valores máximos en el instante en el que el conmutador de la Figura 2-8a se coloca en la posición 1. Por otra parte, en ese mismo instante, la tensión en bornes del condensador aumenta rápidamente desde cero y se aproxima al final a un valor constante. A efectos prácticos, se considera que un condensador está totalmente cargado cuando han transcurrido cinco veces la constante de tiempo o $5RC$. En este momento la corriente habrá disminuido hasta menos de un 1 por 100 del valor inicial ($e^{-5RC/RC} = e^{-5} = 0,0067 \approx 0,01$).

Cuando el conmutador de la Figura 2-8a se coloca en la posición 2, la batería queda eliminada del circuito y el condensador actúa como una fuente de corriente. Sin embargo, el movimiento de la carga irá en dirección opuesta a la que tenía durante el ciclo de carga. Así,

$$dq/dt = -i$$

El potencial inicial del condensador será el de la batería. Es decir,

$$V_C = V_i$$

Utilizando estas ecuaciones y procediendo como en la deducción anterior, se obtiene que para el ciclo de descarga se cumple

$$i = -\frac{V_C}{R} e^{-t/RC} \quad (2-33)$$

$$v_R = -V_C e^{-t/RC} \quad (2-34)$$

y como $V_C = 0 = v_C + v_R$ (Ecuación 2-26)

$$v_C = V_C e^{-t/RC} \quad (2-35)$$

La Figura 2-8c muestra cómo i , v_R y v_C varían con el tiempo.

Es importante tener en cuenta que, en cada ciclo, la variación de tensión en bornes del condensador está *desfasada y retrasada* respecto de la corriente y del potencial en bornes de la resistencia.

2B-4. Respuesta de los circuitos RC en serie a la entrada de corrientes sinusoidales

En los siguientes apartados, se estudiará la respuesta de los circuitos RC en serie a una señal de tensión de una corriente alterna sinusoidal. La señal de entrada v_s , viene descrita por la Ecuación 2-19

$$v_s = V_p \sin \omega t = V_p \sin 2\pi f t \quad (2-36)$$

Variaciones de la fase en circuitos capacitivos

Si el conmutador y la batería del circuito RC de la Figura 2-8a se reemplazan por una fuente de corriente alterna sinusoidal, el condensador almacena y libera la carga de forma continua, originando así una corriente alterna en dirección que varía conti-

nuamente. Se produce una diferencia de fase ϕ entre la corriente y la tensión como consecuencia del tiempo finito necesario para cargar y descargar el condensador (véanse Figs. 2-8b y 2-8c).

Podemos determinar la magnitud del desfase considerando un condensador en un circuito ideal que no tenga resistencia. Combinando las Ecuaciones 2-18 y 2-25, después de reordenar

$$C \frac{dv_C}{dt} = I_p \sin 2\pi f t \quad (2-37)$$

Para un tiempo $t = 0$, $v_C = 0$. Por tanto, reordenando esta ecuación e integrando entre los valores de tiempo 0 y t , se obtiene

$$v_C = \frac{I_p}{C} \int_0^t \sin 2\pi f t \, dt = \frac{I_p}{2\pi f C} (-\cos 2\pi f t)$$

Pero, por trigonometría se sabe que, $-\cos x = \sin (x - 90)$. Por tanto, se puede escribir

$$v_C = \frac{I_p}{2\pi f C} \sin (2\pi f t - 90) \quad (2-38)$$

Comparando la Ecuación 2-38 con la Ecuación 2-21, se observa que $I_p/(2\pi f C) = V_p$ y, por tanto, la Ecuación 2-38 se puede expresar

$$v_C = V_p \sin (2\pi f t - 90) \quad (2-39)$$

Sin embargo, la corriente instantánea viene dada por la Ecuación 2-18. Esto es,

$$i = I_p \sin 2\pi f t$$

Al comparar las dos últimas ecuaciones, se observa que la tensión en bornes de un condensador ideal

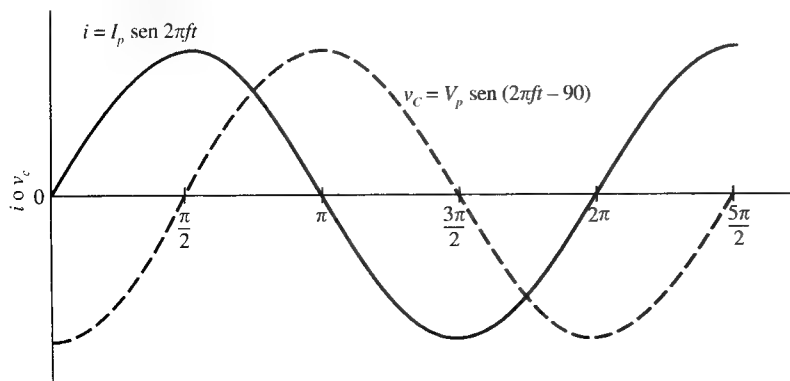


Figura 2-9. Señales sinusoidales de intensidad i y de tensión v_C en un condensador.

que resulte de una señal de entrada sinusoidal es también sinusoidal pero se retrasa 90 grados respecto a la intensidad (véase Fig. 2-9). Como se indicará más adelante, este retraso es menor de 90 grados en un circuito real que contenga una resistencia.

Reactancia capacitiva

Al igual que una resistencia, un condensador en su proceso de carga impide el flujo de carga y por tanto disminuye el valor de la intensidad. Este efecto resulta de la capacidad limitada del dispositivo para almacenar carga a una tensión determinada, como se muestra en la expresión $Q = CV$. Sin embargo, al contrario de lo que sucede con una resistencia, el proceso de carga no supone una pérdida permanente de energía en forma de calor. En este caso, la energía almacenada durante el proceso de carga retorna al sistema durante la descarga.

La ley de Ohm se puede aplicar a circuitos de corriente alterna capacitivos y toma la forma

$$V_p = I_p X_C \quad (2-40)$$

donde X_C representa la *reactancia capacitiva*, una propiedad del condensador análoga a la resistencia de un elemento resistivo. Sin embargo, dividiendo las Ecuaciones 2-38 y 2-39 se muestra que

$$V_p = \frac{I_p}{2\pi f C} = \frac{I_p}{\omega C}$$

Por tanto, la reactancia capacitiva viene dada por

$$X_C = \frac{V_p}{I_p} = \frac{I_p}{I_p 2\pi f C} = \frac{1}{2\pi f C} = \frac{1}{\omega C} \quad (2-41)$$

y X_C tiene unidades en ohmios.

También debería observarse que al revés que en la resistencia, la reactancia capacitiva *depende de la frecuencia* y se hace más pequeña a medida que aumenta la frecuencia; a frecuencia cero, X_C toma valores muy elevados, por lo que el condensador actúa como un aislante para la corriente continua (despreciando la corriente inicial momentánea de carga).

EJEMPLO 2-3

Calcular la reactancia de un condensador de $0,020 \mu\text{F}$ ($2,0 \times 10^{-8} \text{ F}$) a una frecuencia de (a) $3,0 \text{ MHz}$ y de (b) $3,0 \text{ kHz}$.

(a) Sustituyendo $3,0 \text{ MHz}$ o $3 \times 10^6 \text{ Hz}$ en la Ecuación 2-41 resulta

$$X_C = \frac{1}{2 \times 3,14 \times 3,0 \times 10^6 \times 2,0 \times 10^{-8}} \\ = 2,7 \Omega$$

(b) A $3,0 \text{ kHz}$ o $3 \times 10^3 \text{ Hz}$,

$$X_C = \frac{1}{2 \times 3,14 \times 3,0 \times 10^3 \times 2,0 \times 10^{-8}} \\ = 2.700 \Omega \text{ o } 2,7 \text{ k}\Omega$$

Impedancia de un circuito RC en serie

La *impedancia* Z de un circuito RC está constituida por dos componentes: la resistencia del elemento resistivo y la reactancia del condensador. Sin embargo, debido a la diferencia de fase con el último, no pueden combinarse directamente sino que deben sumarse vectorialmente, tal como se muestra en la Figura 2-10. En este caso, el ángulo de fase de R se toma igual a cero. Como ya se ha indicado, el ángulo de fase de un elemento capacitivo ideal es igual a -90 grados. Así pues, el vector X_C se dibuja perpendicular al vector R dirigiéndose hacia abajo. Aplicando el teorema de Pitágoras, la cantidad Z , denominada *impedancia*, viene dada por

$$Z = \sqrt{R^2 + X_C^2} \quad (2-42)$$

El ángulo de fase es

$$\phi = \arctg \frac{X_C}{R} \quad (2-43)$$

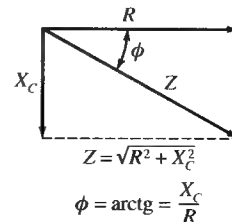


Figura 2-10. Diagrama vectorial de un circuito RC en serie.

La dependencia de la impedancia y del ángulo de fase respecto de la frecuencia, se obtendría sustituyendo la Ecuación 2-41 en 2-42 y 2-43

$$Z = \sqrt{R^2 + \left(\frac{1}{2\pi f C}\right)^2} \quad (2-44)$$

y

$$\phi = \arctg \frac{1}{2\pi f RC} \quad (2-45)$$

Obsérvese que en un circuito RC , el grado de retraso (ϕ) de la tensión respecto a la intensidad depende de la frecuencia f , la resistencia R y la capacitancia C del circuito.

La ley de Ohm para un circuito RC en serie puede escribirse como

$$I_p = \frac{V_p}{Z} = \frac{V_p}{\sqrt{R^2 + \left(\frac{1}{2\pi f C}\right)^2}} \quad (2-46)$$

o

$$V_p = I_p Z = I_p \sqrt{R^2 + \left(\frac{1}{2\pi f C}\right)^2}$$

EJEMPLO 2-4

Una fuente de corriente alterna sinusoidal con una amplitud de tensión de 20 V se colocó en serie con una resistencia de $1,5 \times 10^4 \Omega$ y un condensador de $0,0080 \mu\text{F}$. Calcular la amplitud de la intensidad, el ángulo de fase y la diferencia de potencial en cada uno de los componentes, si la frecuencia de la fuente es de (a) 750 Hz y (b) 75 kHz.

(a) A 750 Hz, al sustituir en la Ecuación 2-41 se tiene

$$\begin{aligned} X_C &= \frac{1}{2\pi f C} = \frac{1}{2\pi \times 750 \text{ Hz} \times 8,0 \times 10^{-9} \text{ F}} \\ &= 2,7 \times 10^4 \Omega \end{aligned}$$

Por la Ecuación 2-42 tenemos que

$$Z = \sqrt{(1,5 \times 10^4)^2 + (2,7 \times 10^4)^2} = 3,0 \times 10^4 \Omega$$

Sustituyendo en la Ecuación 2-46 resulta

$$I_p = 20 \text{ V} / 3,0 \times 10^4 \Omega = 6,6 \times 10^{-4} \text{ A}$$

Para calcular ϕ se utiliza la Ecuación 2-43. Por tanto,

$$\phi = \arctg \frac{X_C}{R} = \arctg \frac{2,7 \times 10^4 \Omega}{1,5 \times 10^4 \Omega} = 61 \text{ grados}$$

La aplicación de la ecuación de un divisor de tensión da

$$(V_p)_R = V_p \times \frac{R}{Z} = \frac{20 \text{ V} \times 1,5 \times 10^4 \Omega}{3,0 \times 10^4 \Omega} = 10,0 \text{ V}$$

$$(V_p)_C = V_p \times \frac{X_C}{Z} = \frac{20 \text{ V} \times 2,7 \times 10^4 \Omega}{3,0 \times 10^4 \Omega} = 18 \text{ V}$$

donde $(V_p)_R$ y $(V_p)_C$ son las amplitudes de las caídas de tensión en la resistencia y en el condensador, respectivamente.

(b) Procediendo de forma similar para la corriente de 75 kHz, se obtienen los siguientes valores

$$X_C = 2,65 \times 10^2 \Omega \quad \phi = 1,01 \text{ grados}$$

$$Z = 1,50 \times 10^4 \Omega \quad (V_p)_R = 20,0 \text{ V}$$

$$I_p = 1,33 \times 10^{-3} \text{ A} \quad (V_p)_C = 0,353 \text{ V}$$

Algunas propiedades importantes de un circuito RC en serie se pueden explicar con los resultados del Ejemplo 2-4. En primer lugar, la suma de las amplitudes de las tensiones de la resistencia y del condensador no es igual a la amplitud de la tensión de la fuente. A la frecuencia inferior, por ejemplo, la suma vale 27,2 V comparada con los 20,0 V de la fuente. Esta aparente anomalía se entiende si se observa que la amplitud máxima de la tensión aparece en la resistencia antes que en el condensador debido al retraso del último. Sin embargo, en cualquier instante se cumple que la suma de las tensiones *instantáneas* en los dos elementos es igual a la tensión de la fuente.

Un segundo punto importante que muestran los datos del Ejemplo 2-4 es que la reactancia del condensador es dos órdenes de magnitud superior a la frecuencia inferior. En consecuencia, la impedancia a la frecuencia superior se asocia en gran medida con la resistencia, y la intensidad es considerablemente mayor. Asociada con la reactancia reducida, a la frecuencia mayor hay una caída de tensión en bornes del condensador muy pequeña, de 0,35 V, frente a los 17,4 V a la frecuencia menor.

Finalmente es interesante saber la magnitud del desfase de la tensión del condensador. A la frecuencia inferior es de unos 60 grados, mientras que a la frecuencia superior es sólo de 1 grado.

2B-5. Filtros basados en circuitos RC

Los circuitos RC en serie se suelen utilizar como filtros para atenuar señales de alta frecuencia mientras pasan a través del circuito los componentes de baja frecuencia (*filtros de paso bajo*), o, por el contrario, para reducir los componentes de baja frecuencia mientras pasan los de alta (*filtros de paso alto*). La Figura 2-11 muestra cómo se puede ordenar un circuito RC en serie para dar lugar a un filtro de paso alto y de paso bajo. En cada caso, se indican las señales de entrada y salida como las tensiones $(V_p)_i$ y $(V_p)_o$.

Filtros de paso alto

Para utilizar un circuito RC como filtro de paso alto, la tensión de salida se toma en bornes de la resistencia R (véase Fig. 2-11a). La amplitud de la intensidad de este circuito se puede hallar sustituyendo en la Ecuación 2-46.

$$I_p = \frac{(V_p)_i}{Z} = \frac{(V_p)_i}{\sqrt{R^2 + \left(\frac{1}{2\pi f C}\right)^2}} \quad (2-47)$$

Como la caída de tensión en la resistencia está en fase con la intensidad de corriente

$$I_p = \frac{(V_p)_o}{R}$$

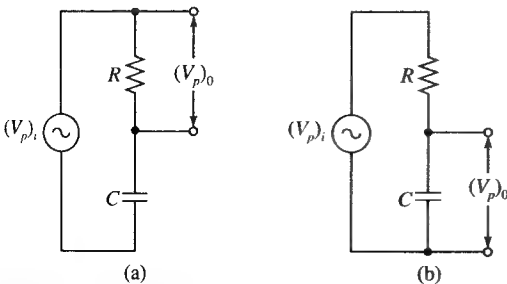


Figura 2-11. Circuitos de filtros: (a) filtro de paso alto; (b) filtro de paso bajo.

La relación entre la amplitud de la tensión de salida y la de entrada se obtiene dividiendo la segunda ecuación por la primera y reordenando.

$$\frac{(V_p)_o}{(V_p)_i} = \frac{R}{\sqrt{R^2 + \left(\frac{1}{2\pi f C}\right)^2}} = \frac{R}{Z} \quad (2-48)$$

Para un filtro clásico de paso alto, la representación gráfica de esta relación en función de la frecuencia se muestra en la curva A de la Figura 2-12a. Obsérvese que de la señal de entrada se han eliminado las frecuencias menores de 20 Hz.

Filtros de paso bajo

Para el filtro de paso bajo de la Figura 2-11b, se puede escribir

$$(V_p)_o = I_p X_C$$

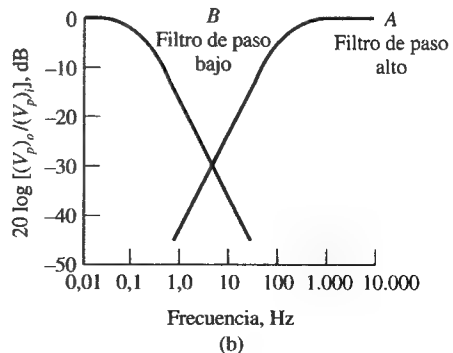
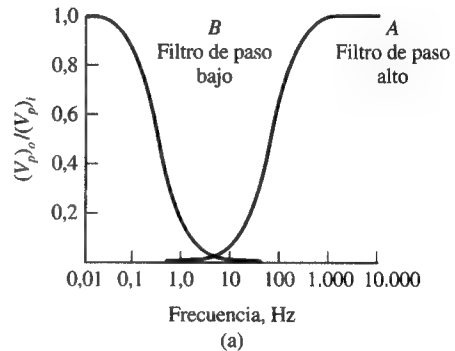


Figura 2-12. (a) Respuesta a la frecuencia de los filtros de paso alto y paso bajo. (b) Diagrama de Bode de filtros de paso alto y paso bajo. Para el filtro de paso alto, $R = 10 \text{ k}\Omega$ y $C = 0,1 \text{ }\mu\text{F}$. Para el filtro de paso bajo, $R = 1 \text{ M}\Omega$ y $C = 1 \text{ }\mu\text{F}$.

Sustituyendo en la Ecuación 2-41 y después de reordenar

$$I_p = 2\pi f C (V_p)_o$$

Sustituyendo en la Ecuación 2-27 y reordenando resulta

$$\frac{(V_p)_o}{(V_p)_i} = \frac{I}{(2\pi f C) \sqrt{R^2 + \left(\frac{1}{2\pi f C}\right)^2}} = \frac{X_C}{Z} \quad (2-49)$$

La curva *B* de la Figura 2-12a muestra la respuesta, en frecuencia, de un filtro típico de paso bajo; los datos para esta representación gráfica se han obtenido mediante la Ecuación 2-49. En este caso, se transfieren a la salida del circuito las componentes de baja frecuencia y corriente continua mientras que las componentes de alta frecuencia son eliminadas.

La Figura 2-12b muestra unos *diagramas de Bode* para los dos filtros descritos. Representaciones gráficas de esta clase se utilizan mucho en electrónica para poner de manifiesto la dependencia de la frecuencia de los cocientes de las señales de salida/entrada de varios circuitos, amplificadores y filtros. La cantidad $20 \log [(V_p)_o / (V_p)_i]$ indica la ga-

nancia de un amplificador o de un filtro en *decibelios*, dB.

Los filtros de paso alto y bajo son de gran importancia en el diseño de los circuitos electrónicos.

2B-6. Respuesta de los circuitos RC a señales de entrada de impulsos

Cuando a un circuito RC se le aplica una señal de entrada de impulsos, las señales de salida de tensión en bornes del condensador y de la resistencia presentan distintas formas, dependiendo de la relación entre la anchura del impulso y la constante de tiempo del circuito. Estos efectos se muestran en la Figura 2-13, donde la señal de entrada es una onda cuadrada con una anchura de impulso de t_p segundos. La segunda columna indica la variación de la tensión en bornes del condensador en función del tiempo, mientras que la tercera muestra la variación de la tensión en la resistencia a los mismos tiempos. En el grupo de representaciones gráficas de la parte superior (Fig. 2-13a), la constante de tiempo del circuito es mucho mayor que la anchura de la señal del impulso de entrada. En estas circunstancias, el condensador sólo llega a cargarse parcialmente durante cada uno de los impulsos. El condensador se descarga al volver el potencial de entrada a cero, resultan-

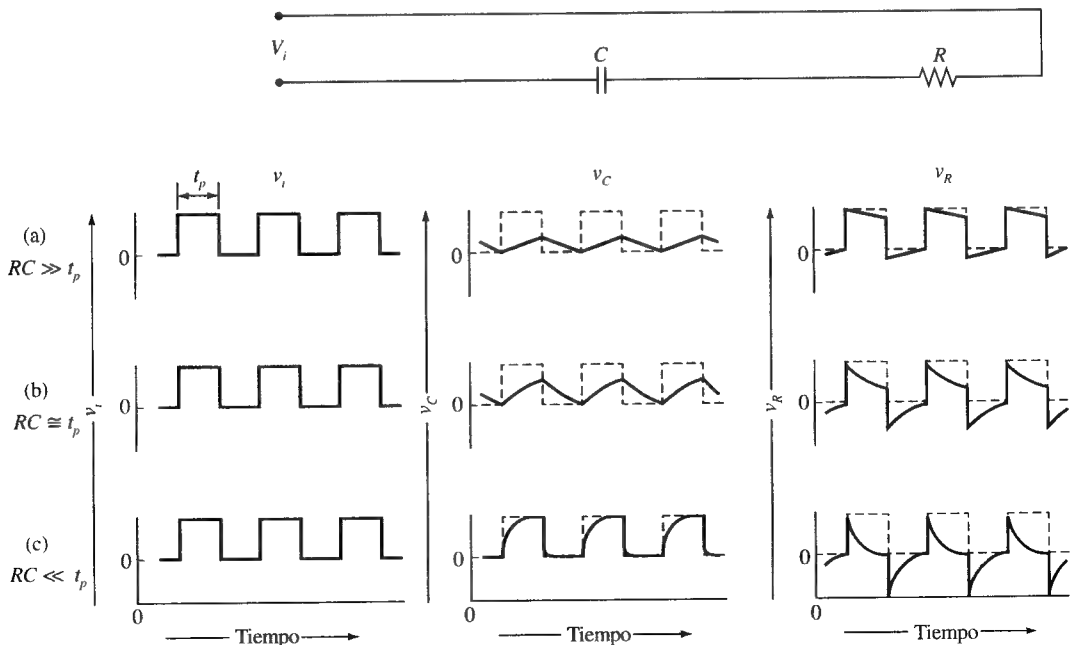


Figura 2-13. Señales de salida v_r y v_c para una señal de entrada de impulsos v (a) constante de tiempo $\gg$ anchura del impulso t_p ; (b) constante de tiempo $= t_p$; (c) constante de tiempo $\ll t_p$.

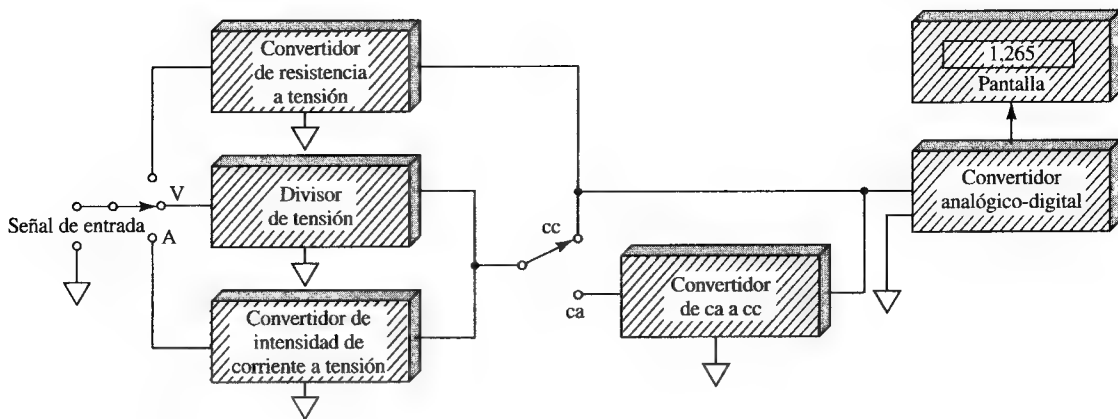


Figura 2-14. Diagrama de bloques de un multímetro digital.

do una señal de salida en forma de dientes de sierra. En estas condiciones, la tensión en la resistencia crece instantáneamente hasta un valor máximo y, a continuación, decrece casi linealmente a lo largo del tiempo de vida del impulso.

El grupo de representaciones gráficas de la parte inferior (Fig. 2-13c) muestra las dos señales de salida, cuando la constante de tiempo del circuito es mucho menor que la anchura del impulso. En este caso la carga en el condensador crece rápidamente y se aproxima a la carga total hacia el final del impulso. Como consecuencia, el potencial en la resistencia disminuye rápidamente hasta cero después de un aumento inicial. Cuando v_i llega a cero, el condensador se descarga inmediatamente; la salida en bornes de la resistencia tiene su amplitud máxima en dirección negativa y entonces se aproxima rápidamente a cero.

Algunas de estas formas ondulatorias de las señales de salida se aplican en los circuitos electrónicos. La salida aguda de la tensión de pico de la Figura 2-13c es especialmente importante en los circuitos de inicio y control de la medida del tiempo.

2B-7. Medidas de impedancia, tensión e intensidad de corriente alterna

Las medidas de impedancia, tensión e intensidad de corriente alterna pueden realizarse con *multímetros digitales*. Estos son instrumentos sofisticados que permiten la medida, en intervalos de varios órdenes de magnitud, de intensidades y tensiones tanto de corriente continua como de corriente alterna, así como de resistencias o impedancias. Tal

como se muestra en la Figura 2-14, los multímetros digitales se construyen a partir de un voltímetro digital de corriente continua, como se detalla en el Apartado 2A-3. En este tipo de medidores, se utilizan circuitos similares a los de la Figura 2-4, en los que sus señales de salida, antes de ser digitalizadas y visualizadas, pasan a través de un convertidor de corriente alterna en corriente continua.

2C. SEMICONDUCTORES Y DISPOSITIVOS SEMICONDUCTORES

Los circuitos electrónicos contienen normalmente uno o más dispositivos no lineales tales como transistores, diodos semiconductores y tubos de vacío o rellenos de gas⁵. Al contrario que en algunos componentes de circuitos eléctricos, como resistencias, condensadores e inductores, las tensiones e intensidades de corriente de entrada y salida de dichos dispositivos no lineales no son proporcionales entre sí. En consecuencia, se pueden construir componentes no lineales para cambiar una señal eléctrica de corriente alterna en corriente continua

⁵ Para más información acerca de los componentes de los circuitos electrónicos modernos, véase H. Y. Malmstadt, C. G. Enke y S. R. Crouch, *Microcomputers and Electronic Instrumentation: Making the Right Connections*. Washington, DC: American Chemical Society, 1994; A. J. Diefenderfer y B. E. Holton, *Principles of Electronic Instrumentation*, 3.^a ed. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1994; J. J. Brophy, *Basic Electronics for Scientists*, 5.^a ed. New York: McGraw-Hill, 1990; P. Horowitz y W. Hill, *The Art of Electronics*, 2.^a ed. New York: Cambridge University Press, 1989.

(*rectificación*) o al revés, amplificar o atenuar una tensión o una intensidad (*modulación de la amplitud*), o alterar la frecuencia de una señal de corriente alterna (*modulación de la frecuencia*).

Antiguamente, los tubos de vacío eran los dispositivos no lineales predominantes en los circuitos electrónicos. Sin embargo, a partir de los años cincuenta, dichos tubos fueron rápida y totalmente desplazados por *diodos y transistores de semiconductores*, que presentan las ventajas de bajo coste, bajo consumo de potencia, poca generación de calor, larga duración y compacidad. No obstante, la época de los transistores individuales o discretos fue muy breve, y hoy en día la electrónica dispone, en general, de *circuitos integrados*, que contienen varios cientos de miles de transistores, resistencias, condensadores y conductores dispuestos en un diminuto chip semiconductor. Los circuitos integrados permiten al científico o al ingeniero diseñar y construir instrumentos bastante sofisticados sólo con el conocimiento de sus propiedades y sus características de entrada y salida, sin necesidad de conocimientos profundos de los circuitos electrónicos de los chips individuales.

En este apartado se estudiarán algunos de los componentes más comunes en los circuitos electrónicos. Después se estudiarán algunos dispositivos que constituyen una parte importante de la mayoría de los instrumentos electrónicos.

Un semiconductor es un material cristalino que tiene una conductividad intermedia entre la de un conductor y la de un aislante. Existen muchas clases de materiales semiconductores, tales como el silicio y el germanio, compuestos intermetálicos como el carburo de silicio y el arseniuro de galio, y una amplia variedad de compuestos orgánicos. Los dos materiales semiconductores que tienen mayor aplicación en los dispositivos electrónicos son el silicio cristalino y el germanio; el estudio se limitará a estas dos sustancias.

2C-1. Propiedades de los semiconductores de silicio y germanio

El silicio y el germanio son elementos del grupo IV y por tanto tienen cuatro electrones de valencia disponibles para formar enlaces. En un cristal de silicio, cada uno de estos electrones se dispone de manera que forme un enlace covalente con un electrón de otro átomo de silicio. Así pues, en principio, no

habrá electrones libres en el silicio cristalino, y cabría esperar que dicho material fuera un aislante. Sin embargo, a temperatura ambiente hay, de hecho, suficiente agitación térmica como para liberar ocasionalmente algún electrón de su enlace, dejarlo que se mueva libremente dentro de la red cristalina y hacer que conduzca de esta manera la corriente eléctrica. La *excitación* térmica de este electrón deja una región cargada positivamente y localizada en el átomo de silicio, denominada *hueco*. Sin embargo, los huecos al igual que los electrones son móviles, y por tanto contribuyen también a la conductividad eléctrica del cristal. El mecanismo del movimiento de los huecos se realiza por etapas; un electrón de enlace de un átomo de silicio adyacente pasa a la zona deficiente en electrones y, de ese modo, deja un hueco positivo tras de sí. Así pues, la conducción en un semiconductor supone el movimiento de los electrones térmicos en un sentido y el de los huecos en el sentido opuesto.

La conductividad de un cristal de silicio o de germanio puede incrementarse de manera considerable por medio de un *dopado*, proceso mediante el cual se introduce por difusión en un cristal calentado de silicio o de germanio, una pequeña cantidad conocida de una impureza. En general, los semiconductores de silicio o de germanio se dopan con elementos del grupo V como arsénico o antimonio, o con los del grupo III como indio o galio. Cuando un átomo de un elemento del grupo V reemplaza en la red a un átomo de silicio, se introduce en dicha estructura un electrón no enlazado; por tanto, sólo se necesita una pequeña cantidad de energía térmica para liberarlo y hacer que contribuya a la conducción. Debe señalarse que el ion positivo del grupo V resultante no proporciona un hueco móvil, ya que los electrones tienen poca tendencia a desplazarse de un enlace covalente de silicio a una posición no enlazante. Un semiconductor que ha sido dopado de forma que contiene electrones no enlazantes se denomina de tipo *n* (de tipo negativo), porque los electrones cargados negativamente son los *transportadores mayoritarios* de las cargas. Al igual que en un cristal no dopado todavía siguen existiendo huecos positivos asociados a los átomos de silicio, pero su número es pequeño si se compara con el número de electrones; por tanto, los huecos son los *transportadores minoritarios* en un semiconductor de tipo *n*.

Un semiconductor de tipo *p* (de tipo positivo) se obtiene cuando se dopa silicio o germanio con un elemento del grupo III, que sólo tiene tres elec-

trones de valencia. En este caso, los huecos positivos se forman cuando los electrones de los átomos de silicio adyacentes van a parar al orbital vacante del átomo de la impureza. Hay que señalar que este proceso genera una carga negativa en los átomos del grupo III. El movimiento de los huecos de un átomo de silicio a otro, tal como ya se ha indicado, constituye una corriente en la que los transportadores mayoritarios son positivos. Los huecos son menos móviles que los electrones libres; por tanto, la conductividad de un semiconductor de tipo p es inherentemente menor que la de uno de tipo n .

2C-2. Diodos semiconductores

Un *diodo* es un dispositivo no lineal que presenta una conductividad mayor en una dirección que en otra. Los diodos se fabrican generando regiones adyacentes de tipo n y de tipo p en un único cristal de germanio o de silicio; la interfase entre estas regiones se denomina *unión pn* .

Propiedades de una unión pn

La Figura 2-15a muestra una sección transversal de un tipo de unión pn , que se forma por difusión de un exceso de impureza de tipo p , como el indio, en un diminuto chip de silicio que se ha dopado con una impureza de tipo n , como antimonio. Una unión de esta clase permite un movimiento de huecos desde la región p hacia la región n y un movimiento de electrones en sentido opuesto. Al difundirse los electrones y agujeros en direcciones opuestas, se crea una región despoblada de portadores de carga móviles y, por tanto, de una resistencia muy elevada. Esta zona, denominada *zona de despoblación*, se muestra en la Figura 2-15d. Debido a la existencia de una separación de la carga a través de la zona de despoblación, se forma una diferencia de potencial entre ambos lados de la región que causa la migración de los electrones y agujeros en dirección opuesta. La corriente que resulta de la difusión de los agujeros y los electrones queda neutralizada con la corriente producida por la migración de los portadores en el campo eléctrico.

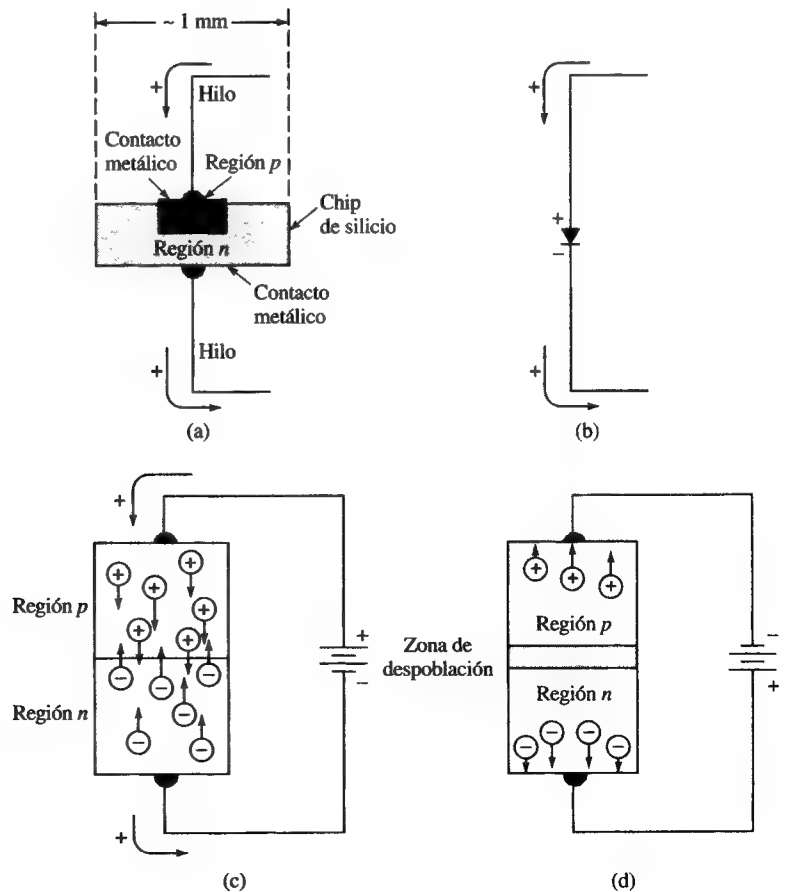


Figura 2-15. Un diodo de unión pn . (a) Aspecto físico de un tipo formado por difusión de una impureza de tipo p en un semiconductor de tipo n , (b) símbolo de un diodo, (c) intensidad en condiciones de polarización directa, (d) resistencia a la intensidad en condiciones de polarización inversa.

co y en consecuencia no hay corriente neta a través de la unión. La magnitud de la diferencia de potencial en bornes de la zona de despoblación depende de la composición de los materiales utilizados en la unión *pn*. Para los diodos de silicio, la caída de tensión es de aproximadamente 0,6 V, y para los de germanio, de unos 0,3 V. Cuando se aplica una tensión positiva en bornes de una unión *pn*, hay muy poca resistencia a la corriente en la dirección del material tipo *p* hacia el material tipo *n*. Por otra parte, la unión *pn* ofrece una resistencia muy elevada al flujo de huecos en sentido contrario y por consiguiente es un *rectificador de corriente*.

La Figura 2-15b muestra el símbolo utilizado para la representación de un diodo. La flecha señala la dirección de baja resistencia a la corriente positiva. La parte triangular del símbolo del diodo indica la dirección de la corriente de un diodo que está en proceso de conducción.

La Figura 2-15c muestra el mecanismo de conducción de la electricidad cuando, al aplicar un potencial, la región *p* se vuelve positiva con respecto a la región *n*; este proceso se denomina *polarización directa*. En este caso, los huecos positivos de la región *p* y el exceso de electrones de la región *n*, que son los portadores mayoritarios en ambas regiones, se mueven bajo la influencia del campo eléctrico hacia la zona de unión, donde pueden combinarse entre sí, de forma que se anulen unos con otros. La terminal negativa de la batería introduce nuevos electrones en la región *n*, los cuales pueden continuar el proceso de conducción; por otro lado, la terminal positiva extrae electrones de la región *p*, creándose de esta manera nuevos huecos que pueden migrar libremente hacia la unión *pn*.

Cuando el diodo está *inversamente polarizado*, como sucede en la Figura 2-15d, los transportadores mayoritarios de cada región se alejan de la unión para formar la zona de despoblación, que contiene pocas cargas. Sólo la pequeña concentración de transportadores minoritarios presentes en cada región se dirigen hacia la unión y de esta forma originan una corriente. Por todo ello, la conductividad en condiciones de polarización inversa es normalmente unas 10^{-6} - 10^{-8} veces inferior al valor de la conductividad en condiciones de polarización directa.

Curvas intensidad-tensión para diodos semiconductores

La Figura 2-16 muestra el comportamiento de un diodo semiconductor típico en condiciones de po-

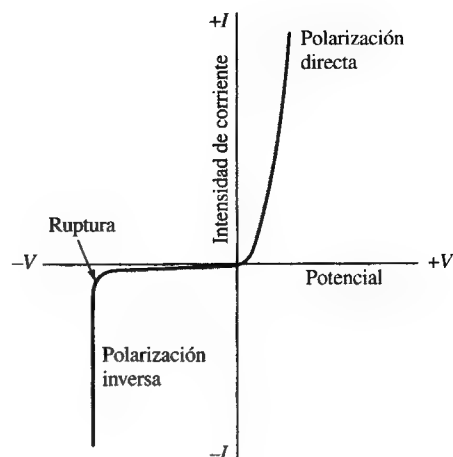


Figura 2-16. Características intensidad-tensión de un diodo semiconductor de silicio. (Obsérvese que, para mayor claridad, se ha exagerado mucho la pequeña corriente antes de la ruptura, que se desarrolla en condiciones de polarización inversa.)

larización directa e inversa. Con polarización directa, la intensidad aumenta casi exponencialmente con la tensión; a menudo se obtienen intensidades de varios amperios. Para un diodo de germanio en condiciones de polarización inversa, se observa una intensidad del orden de decenas de microamperios en un amplio intervalo de tensiones. La corriente de polarización inversa para un diodo de silicio es del orden de decenas de nanoamperios. En esta zona de la curva característica del diodo, la conducción la llevan a cabo los transportadores minoritarios. Por lo general, esta corriente inversa no da lugar a ningún tipo de efecto. Sin embargo, cuando aumenta la tensión inversa, se alcanza finalmente una *tensión de ruptura*, para la cual, la corriente inversa toma de forma brusca valores muy altos. En este caso, los electrones y agujeros, formados al romperse los enlaces covalentes del semiconductor, son acelerados por el campo para así originar más electrones y agujeros por colisión. Además, el efecto túnel mecánico-cuántico de los electrones a través de la capa de unión contribuye al aumento de la conductividad. Si esta conducción es demasiado elevada, se puede producir un calentamiento y un deterioro del diodo. La tensión a la que se produce el aumento brusco de la corriente en condiciones de polarización inversa, se denomina *tensión Zener de ruptura*. Si se controla el espesor y el tipo de la capa de unión, se pueden obtener tensiones Zener que van desde unos pocos voltios hasta varios centenares de voltios. Como ya se explicará, este fenómeno tiene aplicaciones prácticas importantes en las fuentes de tensión de precisión.

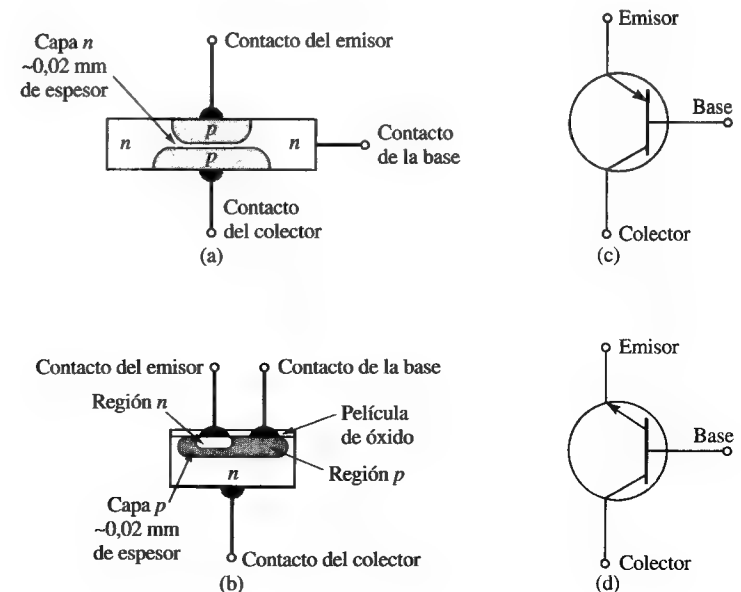
2C-3. Transistores

El transistor es un dispositivo semiconductor básico en la amplificación y en el campo de los interruptores. Este dispositivo realiza la misma función que el tubo de vacío amplificador de antaño, es decir, proporciona una señal de salida que suele ser significativamente mayor que la de entrada. Existen varios tipos de transistores; dos de los más utilizados son los *transistores bipolares* y los *transistores de efecto de campo*; ambos se describirán en este capítulo.

Transistores bipolares

Los transistores de unión bipolar o transistores bipolares (BJT) consisten en dos diodos semiconductores dispuestos uno frente a otro. Los transistores *pnp* constan de una región tipo *n* muy delgada colocada entre dos regiones tipo *p*; los de tipo *nnp* tienen una estructura inversa. Los transistores bipolares se construyen de diferentes formas, dos de las cuales se muestran en la Figura 2-17. Los símbolos de los transistores tipo *pnp* y *nnp* se muestran en la parte derecha de la Figura 2-17. En ellos, la flecha en el emisor indica el sentido de la corriente positiva. Así pues, en los de tipo *pnp*, las cargas positivas fluyen del emisor hacia la base; en los de tipo *nnp* ocurre lo contrario.

Figura 2-17. Dos tipos de transistores bipolares. Los detalles de su construcción se muestran en (a) para un transistor *pnp* de unión por aleación y en (b) para un transistor plano *nnp*. Los símbolos de los transistores bipolares *pnp* y *nnp* se muestran en (c) y en (d), respectivamente. (Obsérvese que los transistores de unión por aleación pueden fabricarse también como tipos *nnp* y los planos como *pnp*.)



Características eléctricas de un transistor bipolar

En este apartado se estudiará el comportamiento de un transistor bipolar de tipo *pnp*. Debe tenerse en cuenta que un transistor de tipo *nnp* es similar, excepto en el sentido de la corriente, que es el opuesto al del transistor *pnp*.

Cuando el transistor se utiliza en un dispositivo electrónico, se conecta una de las terminales a la señal de entrada, la segunda se utiliza como señal de salida y la tercera se conecta a ambas y es la terminal *común*. Por tanto, son posibles tres configuraciones: emisor común, colector común y base común. La configuración más utilizada en amplificación es la de emisor común, y es la que se estudiará con detalle.

La Figura 2-18 muestra la amplificación de corriente que se produce cuando un transistor *pnp* se utiliza en la modalidad de emisor común. En este caso, se introduce en el circuito base-emisor una pequeña intensidad de entrada de corriente continua I_B que se amplifica; esta intensidad está señalada en la figura como la intensidad base. Como se verá más adelante, también se puede amplificar una intensidad de corriente alterna superponiéndola a I_B . Después de la amplificación, la componente de corriente continua puede eliminarse por medio de un filtro.

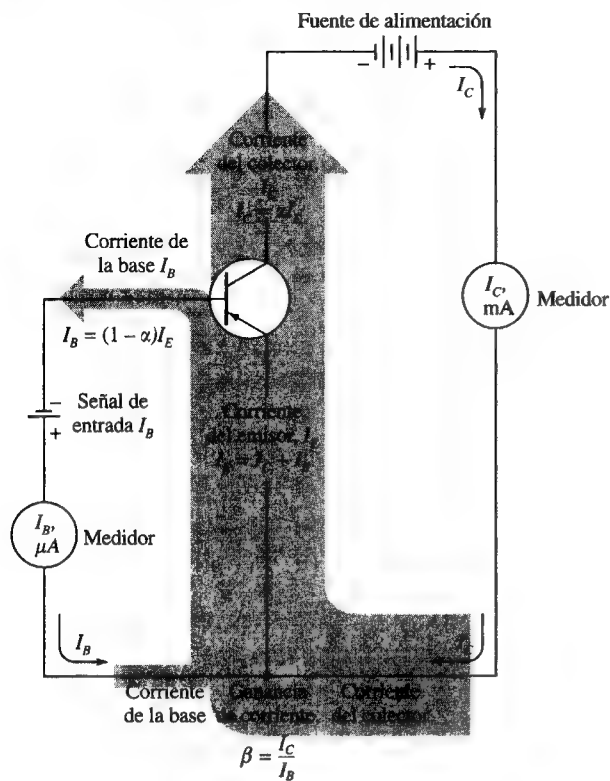


Figura 2-18. Intensidades de corriente en un circuito emisor común con un transistor. Por lo general, $\alpha = 0,95$ a $0,995$ y $\beta = 20$ a 200 .

El circuito emisor-colector se alimenta mediante una fuente de corriente continua, similar a la descrita en el Apartado 2D. Normalmente, la fuente de alimentación proporciona una tensión entre 9 y 30 V.

Obsérvese que, tal como indica la anchura de las flechas, el colector o intensidad de salida I_C es significativamente mayor que la intensidad de la base I_B . Además, la magnitud de la corriente del colector es directamente proporcional a la corriente de entrada. O sea,

$$I_C = \beta I_B \quad (2-50)$$

en la que la constante de proporcionalidad β es la *ganancia de intensidad*, que mide la amplificación de la corriente que se ha producido. Para transistores clásicos, los valores de β están entre 20 y 200.

Es importante observar que un BJT necesita una corriente a través de la base o fuera de la base para iniciar la conducción entre el emisor y el colector. En consecuencia, los circuitos construidos a partir de BJT toman de sus fuentes de alimentación cantidades significativas de intensidad durante su funciona-

miento. Más adelante se describirá otro tipo de transistor, el transistor de efecto de campo, que requiere una intensidad casi nula para su funcionamiento.

Mecanismo de amplificación con un transistor bipolar

Hay que tener en cuenta que la interfase emisor-base del transistor de la Figura 2-18, constituye una unión directamente polarizada de tipo *pn*, cuyo comportamiento es análogo al indicado en la Figura 2-15c, mientras que la región base-colector es una unión inversamente polarizada de tipo *np* similar a la del circuito de la Figura 2-15d. En condiciones de polarización directa, cuando se aplica una señal de entrada de unas décimas de voltio, se desarrolla una corriente significativa I_B (véase Fig. 2-16). Por el contrario, el paso de corriente a través de la unión colector-base polarizada inversamente, queda inhibido por la migración de los transportadores mayoritarios hacia afuera de la unión, tal como se indica en la Figura 2-15d.

En la fabricación de un transistor *pn*p, la región *p* se dopa a propósito mucho más que la región *n*. Por tanto, la concentración de huecos de la región *p* es cien o más veces superior a la de los electrones móviles de la capa *n*. Así pues, la fracción de la intensidad de corriente que produce el movimiento de huecos positivos es unas cien veces mayor que la fracción que producen los electrones.

Volviendo de nuevo a la Figura 2-18, se observa que se forman huecos en la unión tipo *p* del emisor al eliminarse electrones por las dos fuentes de corriente continua, denominadas fuente de alimentación y fuente de entrada. Estos huecos pueden moverse en la región muy estrecha de la base tipo *n*, en la que algunos se combinan con los electrones procedentes de la fuente de entrada, y el resultado es la corriente de la base I_B . Sin embargo, la mayoría de los huecos se desplazan a través de la estrecha capa de la base y son atraídos hacia la unión del colector cargada negativamente, en la que se combinan con los electrones de la fuente de alimentación; el resultado es la corriente del colector I_C .

Es importante considerar que el valor de la corriente del colector viene determinado por el número de huecos transportadores de corriente disponibles en el emisor. Este número es un múltiplo fijo del número de electrones proporcionados por la corriente de entrada de la base. Así pues, cuando se duplica la corriente por la base, también lo hace la corriente por el colector. Esta relación es la que

determina la amplificación de corriente que presentan los transistores bipolares.

Transistores de efecto campo (FET)

Se han desarrollado varios tipos de transistores de efecto de campo que son muy utilizados en los circuitos integrados. Uno de ellos, el transistor de efecto de campo de puerta aislada es el resultado de la necesidad de aumentar la resistencia de entrada de los amplificadores. Los transistores de efecto de campo de puerta aislada típicos tienen impedancias de entrada que van de 10^9 a $10^{14} \Omega$. A este tipo de transistor se le suele denominar habitualmente MOSFET, que es el acrónimo anglosajón de *metal oxide semiconductor field-effect transistor* (transistor de efecto de campo de semiconductor de óxido metálico).

La Figura 2-19a muestra las características estructurales de un MOSFET de un canal n . En este caso, se forman dos regiones aisladas n dentro de un sustrato tipo p . Una capa delgada muy aislante de dióxido de silicio cubre ambas regiones, y a su vez puede cubrirse con una capa protectora de nitruro de silicio. Se hacen unas aberturas a través de estas capas de forma que se pueda establecer un contacto eléctrico entre las dos regiones n . Se establecen dos contactos más, uno con el sustrato y el otro con la superficie de la capa aislante. Este último se denomina puerta porque el potencial de este contacto determina la magnitud de la corriente positiva entre el punto de drenaje y la fuente. Obsérvese que la capa aislante de dióxido de silicio entre la puerta y el sustrato es la que determina la elevada impedancia de un MOSFET.

En ausencia de un potencial en la puerta, no se desarrolla prácticamente ninguna intensidad entre el punto de drenaje y la fuente, porque una de las dos uniones pn está siempre inversamente polarizada independientemente del signo del potencial V_{DS} . Los dispositivos MOSFET se diseñan para operar en *modo enriquecimiento* o en *modo empobrecimiento*. El primer modo se muestra en la Figura 2-19a, en la que se produce un aumento de corriente al aplicar a la puerta un potencial positivo. Tal como se muestra, este potencial positivo induce un canal negativo en el sustrato justo debajo de la capa de dióxido de silicio que cubre el electrodo de puerta. En este caso, el número de cargas negativas, y por tanto la corriente, aumenta cuando la tensión de la puerta V_{GS} también aumenta. La magnitud de este efecto se muestra en la Figura 2-19c. También existen dispositivos MOSFET con canal p de enriquecimiento en los que las regiones p y n están invertidas respecto a las de la Figura 2-19a.

Los dispositivos MOSFET en modo empobrecimiento se diseñan para conducir en ausencia de una tensión de puerta, y se transforman en no conductores cuando se aplica un potencial a dicha puerta. Un MOSFET de canal n de este tipo se construye de manera similar al transistor de la Figura 2-19a salvo que en este caso las dos regiones n se conectan por medio de un estrecho canal de un semiconductor de tipo n . La aplicación de una tensión negativa en V_{DS} repele los electrones fuera del canal y, por tanto, disminuye la conducción a través de ese canal. Es importante apreciar que la corriente necesaria que hay que introducir en la puerta de un MOSFET para iniciar la conducción entre la fuente y el drenaje es prácticamente nula. Esta

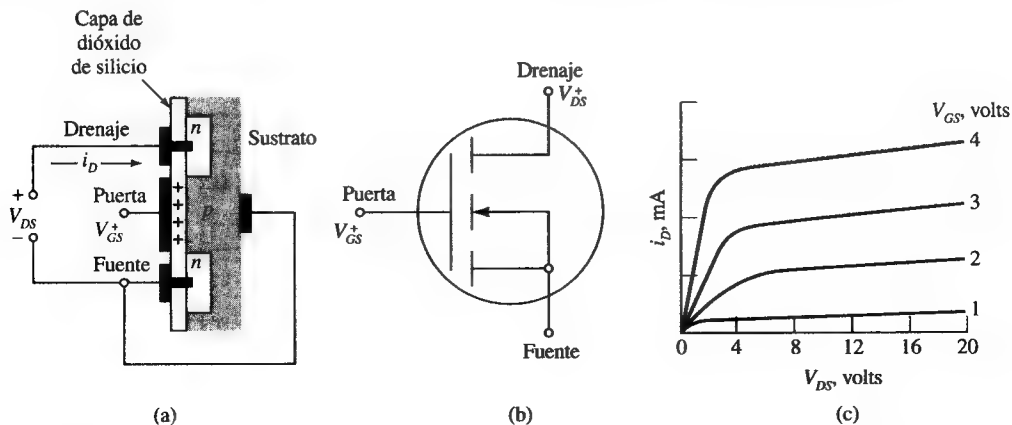


Figura 2-19. MOSFET en la modalidad de enriquecimiento con canal n . (a) Estructura; (b) símbolo; (c) características de funcionamiento.

potencia requerida es muy pequeña en comparación con la elevada potencia requerida en los transistores BJT. Esta característica de bajo consumo de potencia hace que los transistores de efecto de campo sean ideales para equipos portátiles en los que son necesarias baterías de alimentación.

2D. FUENTES DE ALIMENTACIÓN Y REGULADORES

Por lo general, los instrumentos de laboratorio requieren una alimentación en corriente continua para que operen los amplificadores y otros componentes eléctricos. Sin embargo, la fuente más habitual de suministro eléctrico es la corriente alterna de 110 V (en USA) que es la que suministran las compañías públicas. Tal como se indica en la Figura 2-20, las unidades de suministro eléctrico de los laboratorios aumentan o disminuyen la tensión procedente del suministro público, rectifican la corriente de forma que presente una sola polaridad y, finalmente, suavizan la señal de salida para que se aproxime a la de una corriente continua. La mayoría de las fuentes de alimentación contienen también un regulador de tensión, que mantiene la tensión de salida en el valor constante deseado.

2D-1. Transformadores

La tensión de la corriente alterna se puede aumentar o disminuir fácilmente por medio de un transformador de potencia como el que se esquematiza en la Figura 2-21. El campo magnético variable que se produce alrededor de la bobina *primaria* de este dispositivo a partir de la corriente alterna de 110 V, induce una corriente alterna en las bobinas *secundarias*; la tensión V_x en cada una de ellas viene dada por

$$V_x = 115 \times N_2/N_1$$

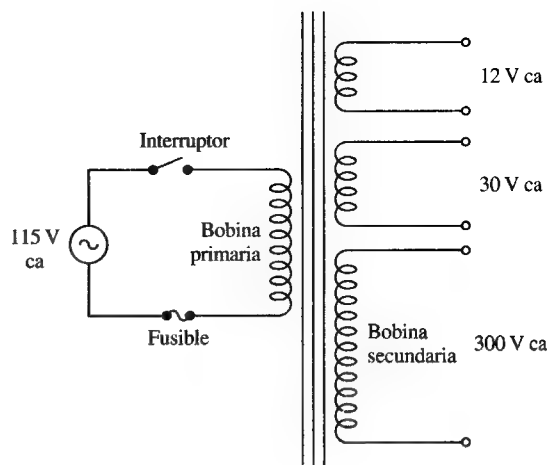


Figura 2-21. Esquema de un transformador de potencia con múltiples bobinas secundarias.

donde N_2 y N_1 son, respectivamente, el número de espiras de las bobinas secundaria y primaria. En el mercado existen fuentes de alimentación con múltiples salidas, como en la Figura 2-21, que permiten obtener muchas combinaciones diferentes de tensión. De esta forma, un único transformador puede servir como fuente de alimentación de los diversos componentes de un instrumento.

2D-2. Rectificadores y filtros

La Figura 2-22 muestra tres tipos de rectificadores y las correspondientes formas de sus señales de salida. Cada uno de ellos utiliza diodos semiconductores (véase Apartado 2C-2) para bloquear la corriente en una determinada dirección, mientras se permite la circulación en la opuesta. Para reducir las fluctuaciones de corriente que se muestran en la Figura 2-14, la señal de salida de los rectificadores se suele filtrar colocando un condensador de gran capacidad en paralelo con la resistencia R_L , como se muestra en la Figura 2-23. La carga y descarga

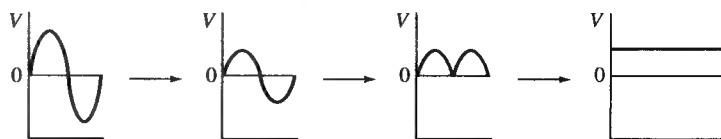
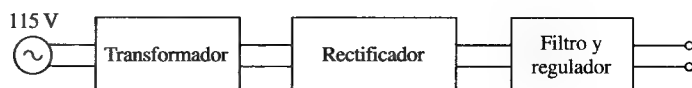


Figura 2-20. Diagrama que muestra los componentes de una fuente de alimentación y sus efectos en la señal



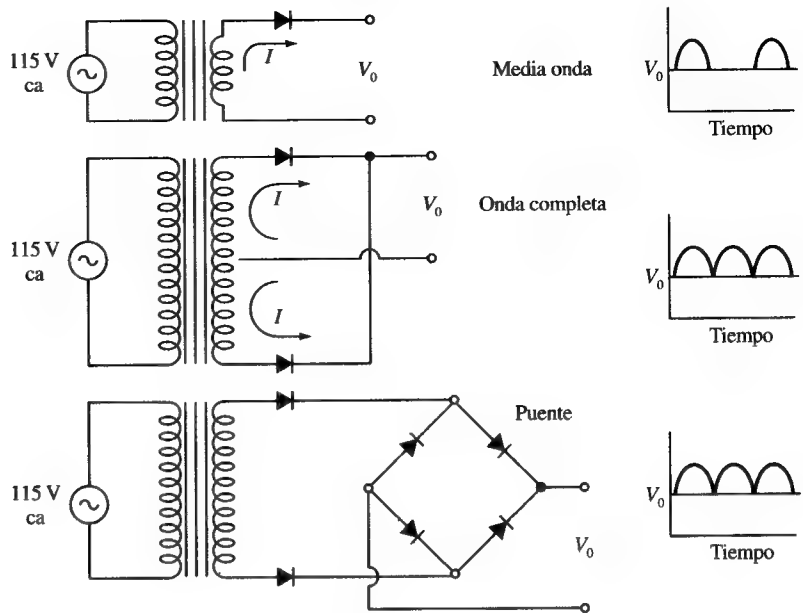


Figura 2-22. Tres tipos de rectificadores.

del condensador tiene el efecto de dejar reducidas las variaciones a un pequeño rizado. En algunas aplicaciones sirven como filtro un inductor en serie y un condensador en paralelo con la resistencia; este tipo de filtro se denomina *sección L*. Si se eligen adecuadamente la capacitancia y la inductancia, la amplitud del rizado puede llegar a ser del orden de los milivoltios o incluso menor.

2D-3. Reguladores de tensión

A menudo, los componentes de los instrumentos requieren tensiones de corriente continua que sean constantes e independientes de la corriente. Los reguladores de tensión sirven para este fin. En la Figura 2-24 se muestra un regulador de tensión sencillo que utiliza un *diodo Zener*, una unión *pn* diseñada para operar en condiciones de ruptura; obsérvese el símbolo especial de este tipo de diodo. En la Figura 2-16 (página 42) puede verse que para una cierta polarización inversa, el diodo transistor sufre una brusca ruptura, después de lo cual la corriente varía repentinamente. Por ejemplo, en con-

diciones de ruptura, se puede producir una variación de la corriente de 20 a 30 mA como consecuencia de un cambio de potencial de 0,1 V o menos. En el mercado existen diodos Zener con tensiones de ruptura especificadas.

Como reguladores de tensión se escogen diodos Zener que operen siempre en condiciones de ruptura; esto es, la tensión de entrada que hay que regular es mayor que la tensión de ruptura. Para el regulador de la Figura 2-24, un aumento de tensión produce un aumento de la corriente a través del diodo. Sin embargo, debido a que en la región de ruptura (Fig. 2-16) la pendiente de la curva intensidad-tensión es muy pronunciada, la caída de tensión en el diodo, y por tanto en la carga, es prácticamente constante.

Los modernos circuitos integrados reguladores de tensión utilizan las propiedades de los diodos Zener para proporcionar tensiones de referencia estables. Estas tensiones son utilizadas conjuntamente con circuitos de realimentación y transistores de potencia para crear fuentes de alimentación con regulaciones de ± 10 mV o mejores. Estos reguladores tienen tres terminales: entrada, salida y circuito

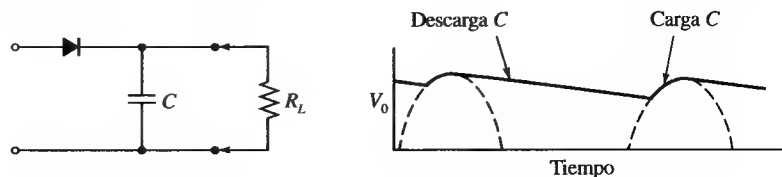


Figura 2-23. Filtrado de la salida de un rectificador.

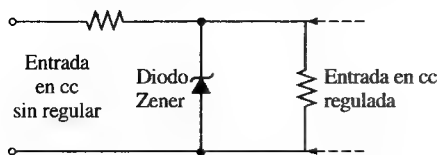


Figura 2-24. Un regulador Zener estabilizador de tensión.

común. La salida rizada rectificada y filtrada de una fuente de alimentación puede conectarse al regulador de tensión de tres terminales para producir un suministro estable frente a fluctuaciones de temperatura y que se corte automáticamente en caso de que la corriente de carga exceda de un valor máximo permitido, que en la mayoría de los circuitos que se utilizan tiene un valor típico de un amperio. Los circuitos integrados reguladores de tensión se hallan en las fuentes de alimentación de la mayoría de los dispositivos electrónicos.

Los reguladores de este tipo tienen la desventaja de disipar mucha potencia; debido a ello, con el desarrollo de los ordenadores y otros dispositivos electrónicos se requieren reguladores más eficaces. La solución a este problema son los *reguladores de conmutación*, que son capaces de proporcionar potencia a la carga sólo cuando es necesaria y siempre manteniendo constante la tensión. La mayoría de las fuentes de alimentación de los ordenadores dispone de reguladores de conmutación. Los detalles del funcionamiento de las fuentes de alimentación de conmutación están fuera del alcance de este texto, aunque sus fundamentos se estudian en los aspectos generales, al principio de este capítulo.

2E. DISPOSITIVOS DE LECTURA

En este apartado se describen tres dispositivos de lectura habituales, denominados: tubos de rayos catódicos (CRT), registradores de laboratorio y unidades de visualización alfanuméricas.

2E-1. Osciloscopios

El osciloscopio es un instrumento de laboratorio muy útil y versátil que utiliza un tubo de rayos catódicos como dispositivo de lectura. Se fabrican dos tipos de osciloscopios, los analógicos y los digitales. Los osciloscopios digitales se utilizan cuando es necesario un procesamiento complejo de la señal. Los osciloscopios analógicos suelen ser más sencillos, más fácilmente transportables y utilizables y más baratos (menos de 500 dólares) que sus homólogos digitales. El estudio se reducirá a los instrumentos analógicos sencillos. El diagrama de bloques de la Figura 2-25 muestra los componentes más importantes de dichos instrumentos y el camino que recorre la señal a través de ellos. La visualización se produce mediante un tubo de rayos catódicos.

Tubo de rayos catódicos

En la Figura 2-26 se muestra un diagrama de bloques con los componentes principales de un tubo de rayos catódicos. En este caso, la visualización se produce por interacción de los electrones de un haz enfocado, con un recubrimiento fosforescente en el interior de la gran superficie curva del tubo sin gas. El haz de electrones proviene de un cátodo calentado que se mantiene al potencial de tierra. Una serie de múltiples ánodos focalizadores produce un haz estrecho de electrones que son acelerados por una tensión de varios miles de voltios. En ausencia de señales de entrada, el haz aparece como un pequeño punto brillante en el centro de la pantalla.

Placas de control horizontal y vertical. Las señales de entrada se aplican a dos conjuntos de placas, uno de los cuales desvía el haz en dirección horizontal y el otro en dirección vertical. Por tanto, se logra visualizar una representación gráfica x - y de dos señales relacionadas en la pantalla del CRT

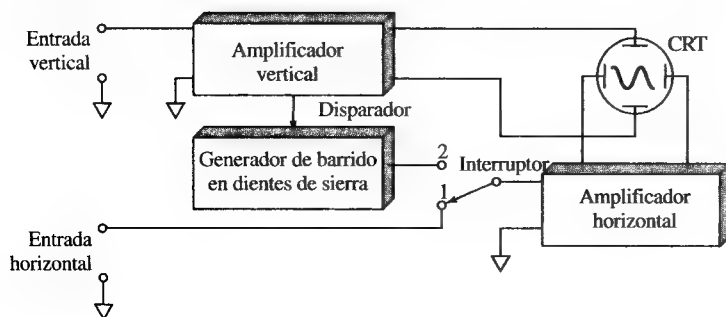


Figura 2-25. Componentes básicos de un osciloscopio analógico.

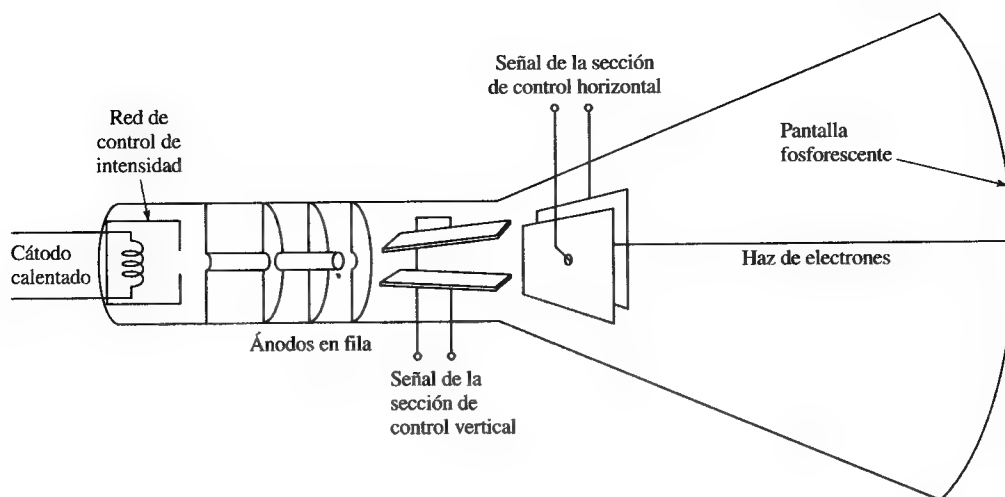


Figura 2-26. Esquema de un tubo de rayos catódicos.

cuando el conmutador de la Figura 2-25 se encuentra en la posición 1. Como la pantalla es fosforescente, el movimiento del punto aparece como un trazo continuo luminoso que decae después de un breve período de tiempo.

La forma más corriente de utilizar un tubo de rayos catódicos es hacer que, al aplicar una señal de barrido en forma de dientes de sierra a las placas de desviación horizontal, el punto luminoso barra periódicamente, a velocidad constante, el eje horizontal central del tubo. El osciloscopio funcionará de esta forma cuando se lleve el conmutador de la Figura 2-25 a la posición 2. En este caso, el eje horizontal de la visualización corresponde al tiempo. Si se aplica una señal periódica a las placas de visualización vertical se obtiene una visualización de la forma de la onda de dicha señal. La mayoría de los osciloscopios analógicos tienen velocidades de barrido que van desde $1 \mu\text{s}/\text{cm}$ a $1 \text{ ns}/\text{cm}$. En general, se puede disminuir la velocidad de barrido en potencias de 10 hasta llegar a ser del orden de segundos por centímetro.

Si se desea, el control de la sección horizontal de la mayoría de los osciloscopios puede dirigirse mediante una señal externa de tensión en vez de por una señal interna en dientes de sierra. Con este modo de funcionamiento, el osciloscopio se transforma en un registrador gráfico x - y que visualiza la relación funcional entre las dos señales de entrada.

Control de disparo. Para poder tener visualizada y quieta en la pantalla una señal que se va repitiendo, como una onda senoidal, es fundamental que cada uno de los barridos empiece en idéntico

lugar de la onda —por ejemplo, en el máximo, en el mínimo, al cruzar por el cero o en un cambio brusco en la señal—. La sincronización se suele realizar mezclando una parte de la señal test con la señal del barrido, de forma que se produzca un pico de tensión para, por ejemplo, cada máximo o algún múltiplo de él. Este pico sirve, pues, para iniciar el barrido. Así, la forma de la onda puede observarse como una imagen continua en la pantalla.

Los osciloscopios son enormemente utilizados en numerosas aplicaciones de visualización y diagnóstico. Pueden ser utilizados para ver la variación temporal de señales en los detectores, para comparar las relaciones existentes entre varias ondas periódicas en circuitos de procesamiento de señales analógicas, o para poner de manifiesto ruidos de alta frecuencia u otras señales de interés que no se pueden observar utilizando un DMM u otro dispositivo de medida en corriente continua. El osciloscopio es una herramienta de diagnóstico esencial en todo laboratorio instrumental.

2E-2. Registradores⁶

Un registrador típico de laboratorio es un ejemplo de *servosistema*, un dispositivo de tipo nulo que compara dos señales y realiza un ajuste mecánico que reduce su diferencia a cero; es decir, un servosistema que busca continuamente la condición de cero.

⁶ Para un tratamiento más amplio de los registradores de laboratorio, véase G. W. Ewing, *J. Chem. Educ.*, **1976**, 53, A361, A407.

En un registrador de laboratorio, como el que se muestra esquemáticamente en la Figura 2-27, la señal que se va a registrar, V_x , se compara de forma continua con la señal de salida de un potenciómetro alimentado por una señal de referencia, V_{ref} . En la mayoría de los registradores modernos, la señal de referencia se genera mediante un circuito rectificador de diodo Zener con compensación de temperatura que proporciona un potencial de referencia estable. Cualquier diferencia de potencial entre la señal de salida del potenciómetro y V_x se convierte, por medio de un cortador electrónico, en una señal de corriente alterna de 60 ciclos; la señal resultante se amplifica entonces lo suficiente como para activar un pequeño motor eléctrico sensible a fases, que está unido o engranado mecánicamente (por un sistema de poleas como el de la Figura 2-27) tanto a la plumilla del registrador como al contacto deslizante del potenciómetro. La dirección de giro del motor es tal, que la diferencia de potencial entre el potenciómetro y V_x se reduce a cero, lo cual hace que el motor se pare.

Para comprender el control de la dirección del motor, es importante tener en cuenta que un motor reversible de corriente alterna tiene dos conjuntos de bobinas, uno de los cuales es fijo (estator) y el otro gira (rotor). Uno de ellos, por ejemplo el rotor, está alimentado por la línea de suministro de 110 V y, por tanto, tiene asociado a él un campo magnético que fluctúa continuamente. Por otro lado, la señal de salida del amplificador de corriente alterna alimenta la bobina del estator. El campo magnético inducido en éste interacciona con el campo del rotor y hace que éste gire. La dirección del movimiento depende de la fase de la corriente del esta-

tor respecto a la del rotor; sin embargo, la fase de la corriente del estator difiere en 180 grados, según sea V_x mayor o menor que la señal de V_{ref} . Por tanto, la diferencia de señales amplificada puede utilizarse para accionar, desde cualquier dirección, el servomecanismo hacia el valor cero.

En la mayoría de los registradores de laboratorio el papel se mueve a una velocidad fija. Así, se obtiene una representación gráfica de la intensidad de la señal en función del tiempo. Dado que el papel de registro está en un rollo grande o en una tira, este tipo de registrador de laboratorio se denomina registrador de banda de papel. En los *registradores x-y*, el papel se coloca como una hoja individual situada en un lecho plano. El papel es atravesado por un brazo que se mueve a lo largo del eje x . La plumilla se mueve al lado del brazo en la dirección y . Los mecanismos del brazo y de la plumilla están conectados a las señales de entrada x y y , respectivamente, permitiendo, de esta manera, que ambas varíen continuamente. A menudo, los registradores de este tipo van equipados con dos plumillas, que permiten la representación gráfica simultánea en el eje y de dos funciones. Un ejemplo de este tipo de aplicación es la cromatografía, en la que se desea disponer de una gráfica de la señal de salida del detector en función del tiempo, así como la integral respecto al tiempo de dicha salida. De forma alternativa, un registrador con dos plumillas se puede utilizar para visualizar las salidas de dos detectores diferentes que estén controlando el eluyente de una misma columna cromatográfica.

Un registrador moderno de laboratorio dispone de varias velocidades de avance del papel, que van, por lo general, de 0,1 a 20 cm/min. La mayoría tie-

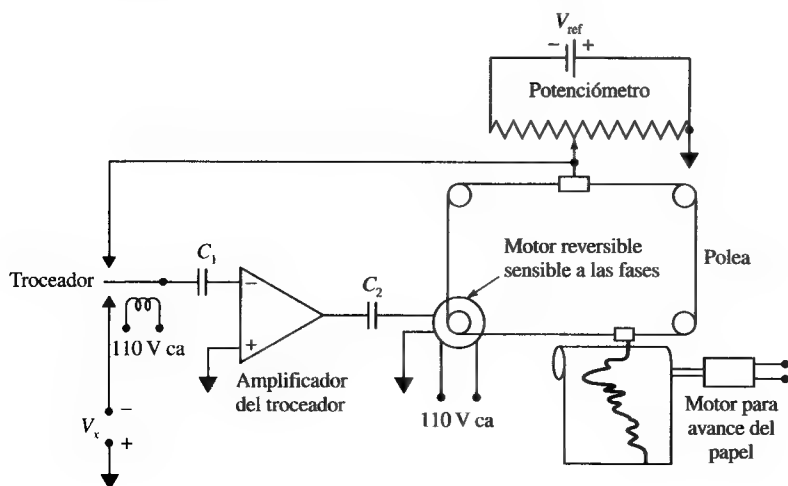


Figura 2-27. Esquema de un potenciómetro registrador autocompensado.

nen la posibilidad de escoger diversos intervalos de tensión, de 1 mV hasta varios voltios para toda la escala completa. Por lo general, la precisión de estos instrumentos es del orden de unas décimas del porcentaje de la escala completa.

Se usan mucho los registradores gráficos digitales. En este caso, la plumilla se acciona mediante un motor de pasos, que responde a señales de tensión digitalizadas al girar una precisa fracción de la rotación por cada impulso de tensión. Las modernas impresoras *x-y* dirigidas por ordenador utilizan servomotores de corriente continua para desplazar la plumilla, el papel, o ambos, dibujando gráficas con los datos procedentes de instrumentos analíticos. Otra alternativa son las impresoras térmicas, similares a las utilizadas en las máquinas sumadoras, y que pueden utilizarse para imprimir datos en continuo, así como para suministrar registros numéricos impresos de algunas propiedades de las curvas representadas gráficamente.

2E-3. Unidades de visualización alfanuméricas

La señal de salida de un equipo digital se visualiza mejor en términos de números decimales y letras, es decir, en forma *alfanumérica*. El dispositivo de lectura de siete segmentos se basa en el principio de que cualquier carácter alfanumérico puede representarse, iluminando la combinación apropiada de siete segmentos dispuestos, tal como indica la Figura 2-28. En este caso, por ejemplo, se forma el número cinco cuando se iluminan los segmentos *a*, *f*, *g*, *c* y *d*; la letra *C* se observa cuando se visualizan los segmentos *a*, *d*, *e* y *f*. Quizás el método más frecuente de iluminar una unidad de visualización de siete segmentos es formar cada segmento con un diodo emisor de luz. Un LED clásico consiste en una unión *pn*

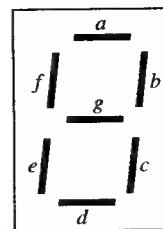


Figura 2-28. Unidad de visualización de siete segmentos.

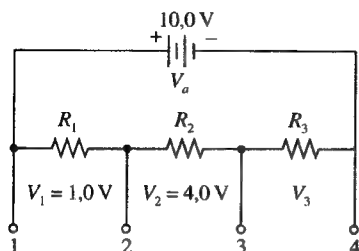
configurada como uno de los segmentos y preparada a partir de arseniuro de galio dopado con fósforo. En condiciones de polarización directa, la unión emite radiación roja como consecuencia de las recombinaciones de los transportadores minoritarios de la región de unión. Cada uno de los siete segmentos se conecta a un circuito decodificador lógico, de forma que se active en el momento adecuado.

También son ampliamente utilizadas unidades de visualización de cristal líquido con siete segmentos, o LCD. En estos casos, una pequeña cantidad de un cristal líquido está contenida en una célula óptica plana y delgada, cuyas paredes se recubren con una película conductora. La aplicación de un campo eléctrico a una determinada región de dicha célula origina un cambio en el alineamiento de las moléculas del cristal líquido y, por tanto, una variación de su apariencia óptica⁷. Ambos visualizadores, LED y LCD, tienen aplicaciones en distintos tipos de instrumentos, y cada uno tiene sus ventajas. Los LCD son especialmente útiles en instrumentos que funcionan con baterías, dado su bajo consumo de potencia, aunque carecen de utilidad en ambientes con luz muy brillante o muy oscuros. Por otra parte, los LED son visibles en ambientes con luz muy brillante, aunque su consumo de potencia es mucho más elevado y, por tanto, su utilización es limitada cuando la alimentación se realice con una batería.

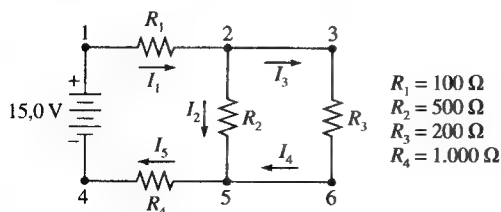
⁷ Para una explicación de las propiedades y aplicaciones de los cristales líquidos, véase G. H. Brown y P. P. Crooker, *Chem. Eng. News*, 1983, Jan. 31, 24; G. H. Brown, *J. Chem. Educ.*, 1983, 60, 900.

2F. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 2-1. Se quiere montar el divisor de tensión indicado debajo y se dispone sólo de dos de las resistencias siguientes: 50 Ω , 100 Ω y 200 Ω .



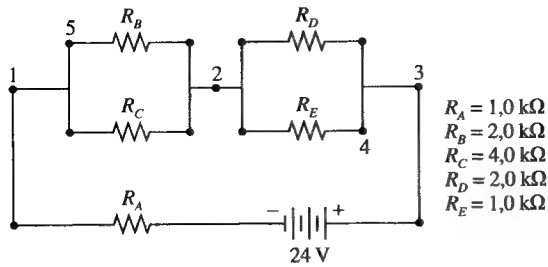
- Indicar la combinación adecuada de resistencias con la que resultarían las tensiones señaladas.
 - ¿Cuál sería la caída IR en bornes R_3 ?
 - ¿Qué intensidad de corriente se obtendría de la fuente?
 - ¿Cuál es la potencia disipada por el circuito?
- 2-2. Suponer que en un circuito similar al del Problema 2-1, $R_1 = 200 \Omega$; $R_2 = 500 \Omega$; $R_3 = 1.000 \Omega$ y $V_b = 15 \text{ V}$.
- Calcular la tensión V_2 .
 - ¿Cuál sería la pérdida de potencia en la resistencia R_2 ?
 - ¿Qué fracción de la potencia total perdida por el circuito se disiparía en la resistencia R_2 ?
- 2-3. Para un circuito similar al del Problema 2-1(a), $R_1 = 1,00 \text{ k}\Omega$; $R_2 = 2,50 \text{ k}\Omega$; $R_3 = 4,00 \text{ k}\Omega$ y $V_b = 12,0 \text{ V}$. Un voltímetro se colocó entre los contactos 2 y 4. Calcular el error relativo de la lectura de tensión si la resistencia interna del voltímetro es de (a) 5.000 Ω ; (b) 50 $\text{k}\Omega$ y (c) 500 $\text{k}\Omega$.
- 2-4. Se utilizó un voltímetro para medir la tensión de una celda con una resistencia interna de 750 Ω . ¿Cuál tiene que ser el valor de la resistencia interna del medidor si el error relativo de la medida ha de ser menor del (a) $-1,0$ por 100, (b) $-0,10$ por 100?
- 2-5. Para el siguiente circuito, calcular:
- La diferencia de potencial en cada una de las resistencias.
 - La magnitud de cada una de las intensidades de corriente indicadas.
 - La potencia disipada por la resistencia R_3 .
 - La diferencia de potencial entre los puntos 3 y 4.



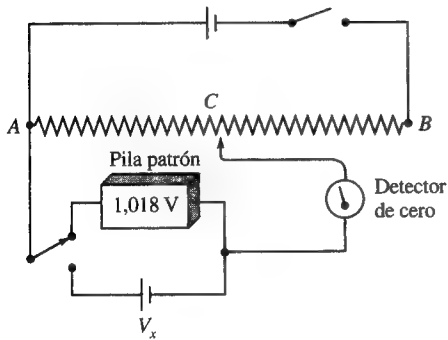
$$\begin{aligned} R_1 &= 100 \Omega \\ R_2 &= 500 \Omega \\ R_3 &= 200 \Omega \\ R_4 &= 1.000 \Omega \end{aligned}$$

- 2-6. Para el circuito indicado en la página siguiente, calcular:
- La potencia disipada entre los puntos 1 y 2.
 - La intensidad de corriente procedente de la fuente.
 - La diferencia de potencial en la resistencia R_A .
 - La diferencia de potencial en la resistencia R_D .

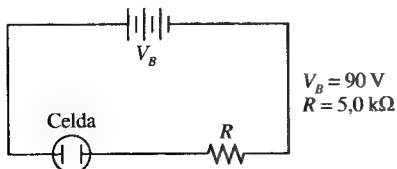
(e) La diferencia de potencial entre los puntos 5 y 4.



2-7. El siguiente circuito corresponde a un potenciómetro de laboratorio que puede medir potenciales desconocidos V_x . Supóngase que la resistencia AB es un hilo móvil cuya resistencia es directamente proporcional a su longitud. Si se coloca una pila Weston estándar (1,018 V) en el circuito, la tensión se anula cuando el contacto C se coloca en una posición a 84,3 cm del punto A . Si la pila Weston se reemplaza por un potencial desconocido, la anulación se observa a 44,3 cm. Calcular el potencial desconocido.



- 2-8. Demostrar que los datos de la cuarta columna de la Tabla 2-1 son correctos.
- 2-9. Demostrar que los datos de la cuarta columna de la Tabla 2-2 son correctos.
- 2-10. Se quiere determinar la intensidad de corriente de un circuito midiendo la diferencia de potencial en una resistencia de precisión que está en serie con el circuito.
- ¿Cuál debería ser el valor de la resistencia en ohmios, si 1,00 V corresponde a $50 \mu\text{A}$?
 - ¿Cuál debería ser el valor de la resistencia del dispositivo de medida del potencial, si el error en la medida de la intensidad ha de ser inferior a un 1,0 por 100 relativo?
- 2-11. Una electrólisis a intensidad de corriente casi constante puede realizarse con la siguiente disposición:

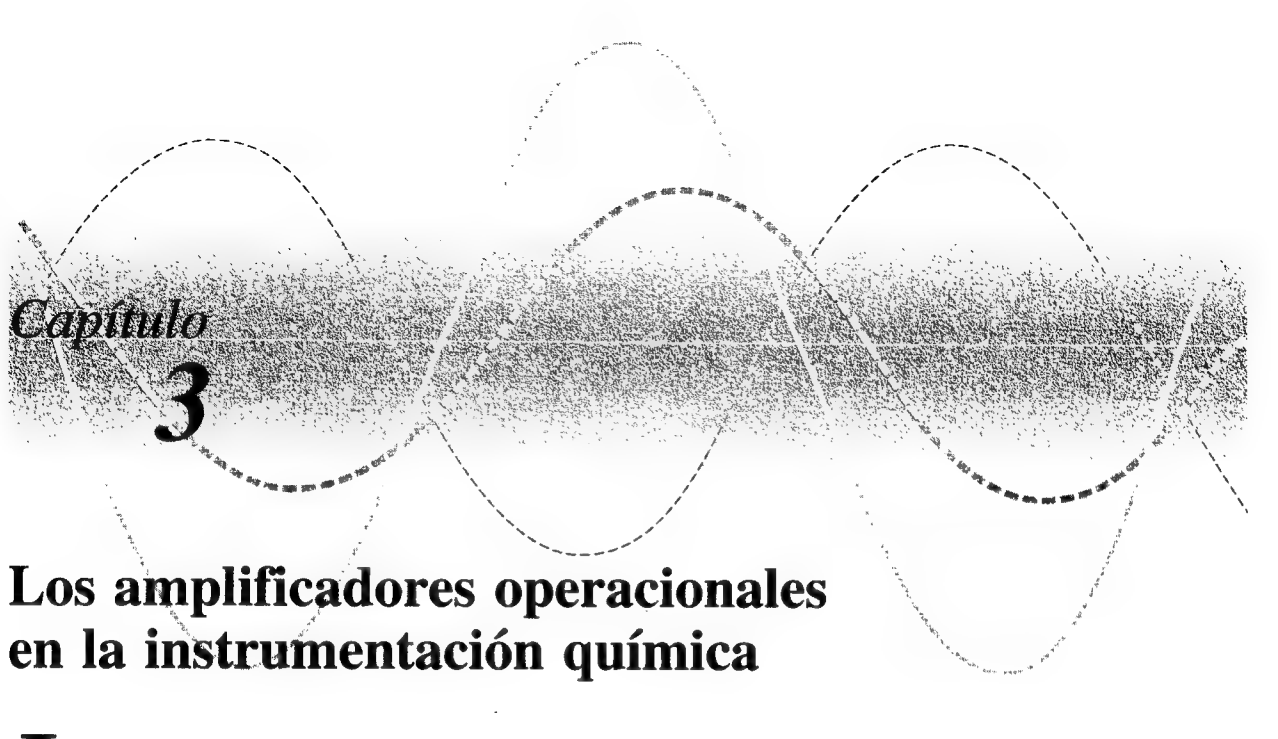


La fuente de 90 V consiste en varias pilas secas cuya tensión se pueden suponer constantes durante períodos de tiempo breves. Durante la electrólisis, la resistencia de las pilas aumenta desde 20Ω a 40Ω debido a la disminución de especies iónicas. Calcular la variación en tanto por ciento de la intensidad de corriente, suponiendo que la resistencia interna de las baterías es cero.

- 2-12. Repetir los cálculos del Problema 2-11 suponiendo que $V_B = 9,0 \text{ V}$ y $R = 0,50 \text{ k}\Omega$.
- 2-13. Se aplica un potencial de corriente continua de 24 V a través de una resistencia en serie con un condensador. Calcular la intensidad después de transcurridos $0,00$; $0,010$; $0,10$; $1,0$ y 10 s , si la resistencia es de $10 \text{ M}\Omega$ y el condensador de $0,20 \text{ }\mu\text{F}$.
- 2-14. ¿Cuánto tiempo se tardaría en descargar hasta un 1 por 100 de su carga total, un condensador de $0,015 \text{ }\mu\text{F}$ a través de una resistencia de (a) $10 \text{ M}\Omega$, (b) $1 \text{ M}\Omega$ y (c) $1 \text{ k}\Omega$?
- 2-15. Calcular las constantes de tiempo de cada uno de los circuitos RC descritos en el Problema 2-14.
- 2-16. Un circuito RC en serie consta de una fuente de corriente continua de 25 V , de una resistencia de $50 \text{ k}\Omega$ y de un condensador de $0,035 \text{ }\mu\text{F}$.
- Calcular la constante de tiempo del circuito.
 - Calcular las diferencias de potencial y la intensidad en el condensador y en la resistencia durante un ciclo de carga; utilizar valores del tiempo de 0 , 1 , 2 , 3 , 4 , 5 y 10 ms .
 - Repetir el cálculo realizado en (b) pero, en este caso, para un ciclo de descarga.
- 2-17. Repetir los cálculos del Problema 2-16 suponiendo que la tensión es de 15 V , la resistencia de $20 \text{ M}\Omega$ y el condensador de $0,050 \text{ }\mu\text{F}$. Usar valores del tiempo de 0 , 1 , 2 , 3 , 4 , 5 y 10 s .
- 2-18. Calcular la reactancia capacitiva, la impedancia y el ángulo de fase ϕ de los siguientes circuitos en serie.

Frecuencia, Hz	R, Ω	$C, \mu\text{F}$
(a) 1	20.000	0,033
(b) 10^3	20.000	0,033
(c) 10^6	20.000	0,0033
(d) 1	200	0,0033
(e) 10^3	200	0,0033
(f) 10^6	200	0,0033
(g) 1	2.000	0,33
(h) 10^3	2.000	0,33
(i) 10^6	2.000	0,33

- 2-19. Obtener la curva de respuesta de la frecuencia de un filtro RC de paso bajo en el que $R = 2,5 \times 10^3 \Omega$ y $C = 0,05 \text{ }\mu\text{F}$. Abarcar un intervalo de $(V_p)_o/(V_p)_i$ desde $0,01$ a $0,99$.
- 2-20. Obtener la curva de respuesta de la frecuencia de un filtro RC de paso alto en el que $R = 5,0 \times 10^5 \Omega$ y $C = 200 \text{ pF}$ ($1 \text{ pF} = 10^{-12} \text{ F}$). Abarcar un intervalo de $(V_p)_o/(V_p)_i$ desde $0,01$ a $0,99$.



Capítulo 3

Los amplificadores operacionales en la instrumentación química

La mayoría de los circuitos de tratamiento de señales analógicas modernos deben su proliferación a un tipo de circuitos integrados conocidos como amplificadores operacionales, también denominados *op amp* u OA. Los amplificadores operacionales se encuentran en todas partes. Sólo hay que abrir cualquier instrumento o pieza de un equipo electrónico, o analizar el esquema interno de un instrumento para encontrar uno o más amplificadores operacionales. Este hecho, unido a la facilidad con la que son capaces de realizar funciones relativamente complejas, acentúa la importancia de adquirir unos conocimientos básicos de sus principios de funcionamiento. En este capítulo se tratarán algunos circuitos con amplificadores operacionales y sus aplicaciones, estudiándose sus propiedades, ventajas y limitaciones¹.

3A. PROPIEDADES DE LOS AMPLIFICADORES OPERACIONALES

El nombre de amplificadores operacionales proviene de sus aplicaciones iniciales en los ordenadores analógicos, en los que se emplearon para ejecutar diversas operaciones matemáticas, tales como sumar, multiplicar, restar e integrar. Los amplificadores operacionales también se utilizan en aplicaciones de tipo general como la medida precisa de tensiones, corrientes y resistencias, que son las variables que miden los detectores utilizados en los instrumentos químicos. También son muy utilizados como fuentes de corriente constante y de tensión constante².

3A-1. Símbolos para los amplificadores operacionales

La Figura 3-1 muestra una representación del circuito equivalente de un amplificador opera-

Horowitz y W. Hill, *The Art of Electronics*, 2.ª ed. New York: Cambridge University Press, 1989.

² Para una información detallada sobre amplificadores operacionales, véase R. Kalvoda, *Operational Amplifiers in Chemical Instrumentation*. New York: Halsted Press, 1975, y las referencias de la nota 1 a pie de página.

¹ Para información general acerca de electrónica, ordenadores e instrumentación, incluyendo amplificadores operacionales y sus características véase H. V. Malmstadt, C. G. Enke y S. R. Crouch, *Microcomputers and Electronic Instrumentation: Making the Right Connections*. Washington, DC: American Chemical Society, 1994; A. J. Diefenderfer y B. E. Holton, *Principles of Electronic Instrumentation*, 3.ª ed. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1994; J. J. Brophy, *Basic Electronics for Scientists*, 5.ª ed. New York: McGraw-Hill, 1990; P.

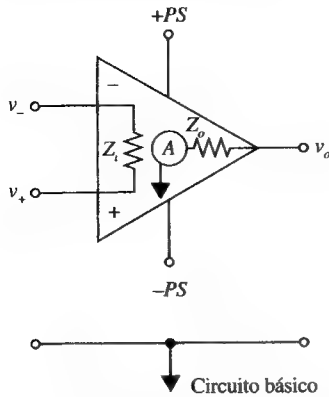


Figura 3-1. Diagrama del circuito equivalente de un amplificador operacional.

cional. En ella, los potenciales de entrada se representan por v_+ y v_- . La tensión de entrada v_s es, por tanto, la diferencia entre estos dos potenciales; esto es, $v_s = v_- - v_+$. Las conexiones de la fuente de alimentación se representan por $+PS$ y $-PS$ y normalmente tienen valores de $+15$ y -15 V de corriente continua. La denominada *ganancia en lazo abierto* de este amplificador se indica como A ; la tensión de salida v_o vendrá dada por $v_o = -Av_s$. Por último, Z_i y Z_o son la impedancia de entrada y de salida del amplificador operacional. Hay que tener en cuenta que la señal de entrada puede ser alterna o continua y, en consecuencia, la señal de salida será del mismo tipo³. Obsérvese que todos los potenciales en los amplificadores operacionales se miden con respecto al *circuito básico* que se muestra en la Figura 3-1. El circuito básico se denomina a menudo de forma errónea, *tierra*. Se definirán estos términos detalladamente y se comentará su significado en el Apartado 3A-2.

Para simbolizar al amplificador operacional en los esquemas de circuitos se utilizan comúnmente dos versiones alternativas a la expuesta en la Figura 3-1 y que se muestran en la Figura 3-2. Un esquema tan completo como el de la Figura 3-2a raramente se encuentra y, en su lugar, se usa casi exclusivamente el diagrama simplificado de la Fi-

gura 3-2b. En éste, se han omitido las conexiones a tierra y a la fuente.

3A-2. Características generales de los amplificadores operacionales

Como se muestra en la Figura 3-3, un amplificador operacional típico es un dispositivo analógico consistente en unos 20 transistores y resistencias que se han incorporado en un chip sencillo mediante la tecnología de los circuitos integrados. Otros componentes, tales como condensadores y diodos también pueden formar parte integrante del dispositivo. Sin tener en cuenta la fuente de alimentación, las dimensiones físicas de un amplificador operacional suelen ser del orden de un centímetro o incluso menos. Además de ser compactos, los amplificadores operacionales modernos son bastante fiables y baratos. Su coste oscila entre menos de un dólar hasta unos cien dólares. Existe una amplia variedad de amplificadores operacionales, diferenciándose entre ellos según la ganancia, las impedancias de entrada y de salida, la tensión operativa, la velocidad y la potencia máxima. Un amplificador operacional comercial típico va colocado en una caja de cerámica o de epoxi de 8 pins, como se muestra en la Figura 3-2c.

Los amplificadores operacionales tienen las siguientes propiedades: (1) amplias ganancias del circuito en lazo abierto ($A = 10^4$ a 10^6); (2) impedancias de entrada elevadas ($Z_i \geq 10^6$ M Ω a 10^{13} Ω); (3) impedancias de salida pequeñas ($Z_o \leq 1$ a 10 Ω); y esencialmente una salida cero para una entrada cero (idealmente $<0,1$ mV de salida). Debido a las características del circuito o a las inestabilidades de los componentes, la mayoría de amplificadores operacionales poseen, de hecho, una pequeña tensión de salida cuando la entrada es cero. Para un amplificador operacional la *tensión de compensación* se define como la tensión de entrada necesaria para producir una tensión de salida cero. A menudo los amplificadores operacionales van provistos de un accesorio de *ajuste de la compensación* para reducirla a un valor despreciable (véase Fig. 3-2c).

Circuito básico y tensión de tierra

Como se ve en la Figura 3-2a, los dos potenciales de entrada, así como el potencial de salida, de un amplificador operacional característico se miden respecto a un *circuito básico* o *masa*, que se simbo-

³ En todo este texto, se seguirá el convenio de utilizar las mayúsculas I , V y Q para representar la intensidad, la tensión y la carga en corriente continua. Las correspondientes letras minúsculas se aplicarán a la corriente alterna. Como las señales de entrada y salida de los amplificadores operacionales pueden ser tanto de corriente continua como de alterna, utilizaremos las variables en minúsculas para simbolizar estas señales excepto si claramente son valores de corriente continua.

Figura 3-2. Símbolos de los amplificadores operacionales. En (a) se dan más detalles de lo habitual. Obsérvese que las dos tensiones de entrada v_- y v_+ , al igual que el potencial de salida se miden respecto al circuito básico (1), que suele estar en o próximo a la tensión de tierra. (b) Forma habitual de representar un amplificador operacional en los diagramas de los circuitos. (c) Representación de un amplificador operacional comercial típico de 8 pins.

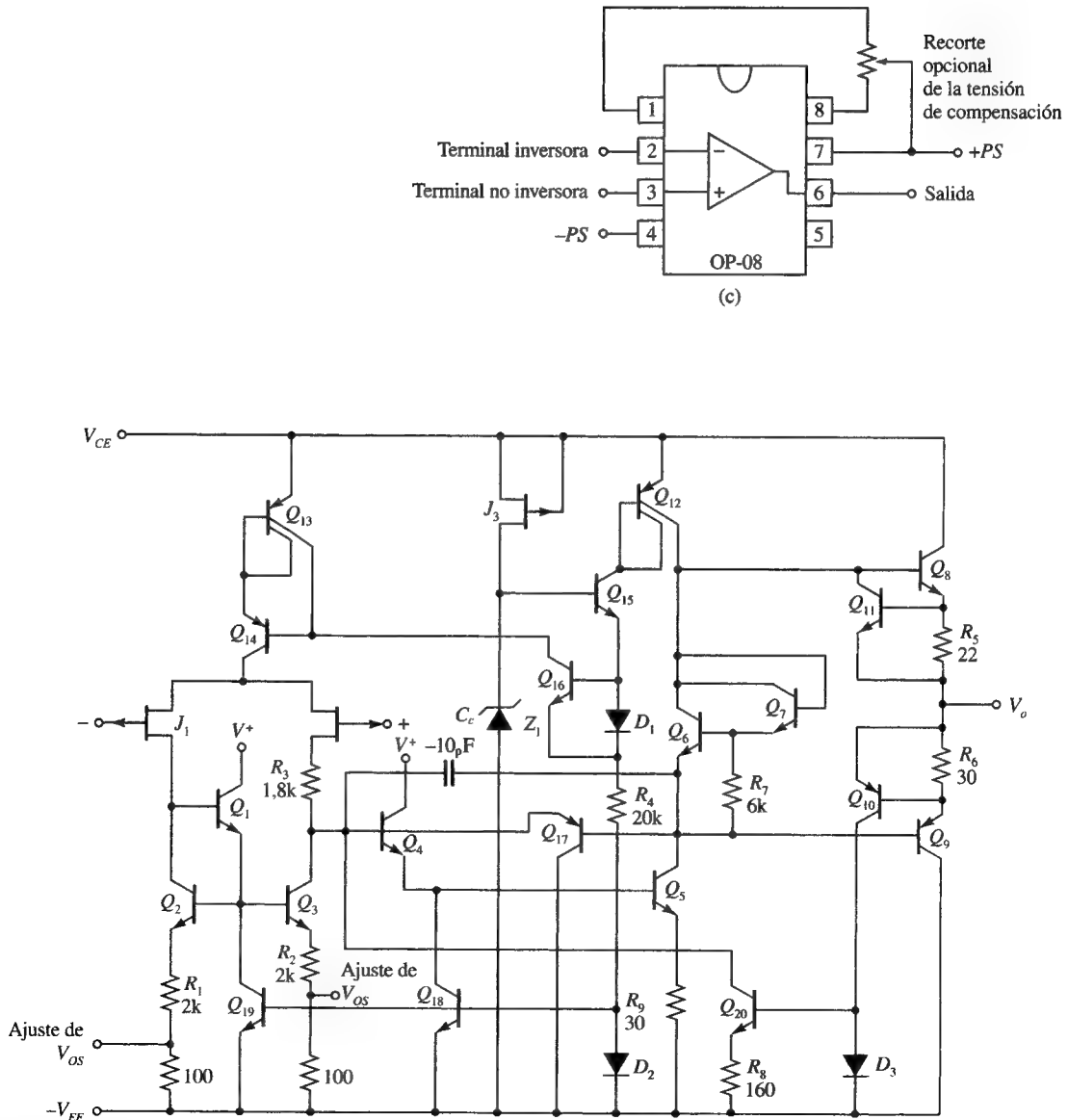
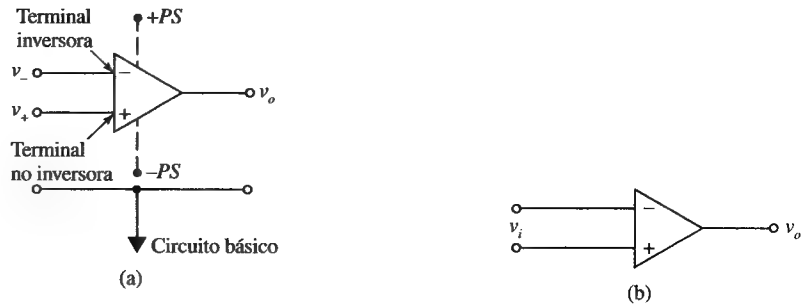


Figura 3-3. Diseño del circuito de un amplificador operacional típico. (Por cortesía de la National Semiconductor Corporation.)

liza por un triángulo (∇). El circuito básico es un conductor que permite el retorno común de todas las corrientes a sus fuentes. En consecuencia, todas las tensiones del circuito toman como referencia el circuito básico. Normalmente, los equipos electrónicos no están conectados a tierra, lo que se simboliza por ($\equiv$). Sin embargo, con frecuencia, el potencial del circuito básico no difiere significativamente del potencial real de la toma de tierra, aunque es importante tener en cuenta que el circuito básico no tiene que estar necesariamente al mismo potencial que tierra. Obsérvese que en la Figura 3-2b no se muestra el circuito básico pero el lector debe suponer su existencia, y que todos los potenciales del circuito están medidos con respecto a él.

Terminales inversoras y no inversoras

Es importante considerar que en la Figura 3-2, los signos *negativo* y *positivo indican las terminales inversora y no inversora* del amplificador operacional y *no* supone que estas terminales estén necesariamente conectadas a las entradas positiva y negativa. Una señal positiva o negativa puede conectarse a cualquier terminal dependiendo de la aplicación del circuito. Así, si se aplica una tensión negativa a la terminal inversora, la salida del amplificador es positiva respecto a ella; en cambio, si se aplica una tensión positiva, resulta una salida negativa. Una señal de corriente alterna introducida en la terminal inversora produce una salida *desfasada 180 grados* con esa señal a la entrada. Por otro lado, la terminal no inversora de un amplificador produce una señal en fase; en el caso de una señal de corriente continua en la terminal no inversora, la salida será una señal de corriente continua con la misma polaridad que la señal de la entrada.

3B. CIRCUITOS CON AMPLIFICADORES OPERACIONALES

Los amplificadores operacionales se emplean en redes de circuitos con diversas combinaciones de condensadores, resistencias y otros componentes eléctricos. En condiciones ideales, la salida del amplificador operacional queda totalmente determinada por las características de la red y de sus componentes y es *independiente del propio amplificador operacional*. Por tanto, hay que estudiar algunas de las diversas redes que utilizan amplificadores operacionales.

3B-1. Circuitos de realimentación

A menudo se desea devolver la señal de salida o una fracción de ella del amplificador operacional a una de las dos terminales de entrada. Cuando la señal de salida de un amplificador operacional se conecta a una de esas dos terminales de entrada, esta señal se denomina *realimentación*. La Figura 3-4 muestra un amplificador operacional con un circuito de realimentación consistente en una *resistencia de realimentación* R_f que está conectada a la terminal de entrada S , denominada *punto suma*. Obsérvese que la señal de realimentación es de sentido opuesto a la señal de entrada v_i como consecuencia de las características de la terminal inversora y, por tanto, se denomina *realimentación negativa*.

La tensión de salida del amplificador operacional v_o es igual a la diferencia de potencial entre v_- y v_+ multiplicado por la ganancia en lazo abierto del amplificador. Esto es

$$v_o = -Av_s = -A(v_- - v_+) \quad (3-1)$$

Despejando v_- en la ecuación se obtiene

$$v_- = v_+ - \frac{v_o}{A} \quad (3-2)$$

Como A es bastante elevado (10^4 a 10^6), la Ecuación 3-2 se transforma en

$$v_- \approx v_+ \quad (3-3)$$

Dado que la terminal no inversora está conectada al circuito básico que tiene un potencial de cero voltios, el potencial en el punto S debe aproximarse al potencial del circuito básico y, por tanto, el punto suma se denomina *tierra virtual*. En otras palabras, aunque la tierra virtual no es realmente el circuito básico, tiene sus mismas características.

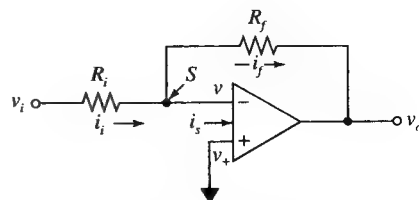


Figura 3-4. Circuito con un amplificador operacional con realimentación negativa: amplificador inversor.

Este resultado lleva a la siguiente generalización que puede simplificar el estudio de muchos circuitos con amplificadores operacionales: un amplificador operacional con un circuito de realimentación negativa (v_o conectado directa o indirectamente a v_-), se comportará de modo que satisfaga la condición especificada en la Ecuación 3-3. Recuérdese que el funcionamiento de un amplificador operacional es posible gracias a la interconexión de sus componentes juntamente con la capacidad del circuito para obtener potencia del generador.

Teniendo en cuenta la ley de Ohm, la intensidad de entrada i_i en el circuito de la Figura 3-4 viene dada por

$$i_i = \frac{v_i - v_-}{R_i} \quad (3-4)$$

donde v_i es la tensión de entrada con respecto a tierra.

De manera similar, la intensidad de realimentación i_f viene dada por

$$i_f = \frac{v_- - v_o}{R_f} \quad (3-5)$$

Como ya se ha mencionado con anterioridad, una de las características de un amplificador operacional es la muy elevada resistencia de entrada que posee. Así, la intensidad a través del amplificador operacional es despreciable frente a i_i y a i_f ; en consecuencia, según la ley de Kirchhoff de la intensidad, las dos últimas intensidades deben ser prácticamente iguales. Esto es, $i_i \approx i_f$ y

$$\frac{v_i - v_-}{R_i} = \frac{v_- - v_o}{R_f} \quad (3-6)$$

Se sustituye la expresión de v_- de la Ecuación 3-2 en la Ecuación 3-6 para obtener

$$\frac{v_i - \left(v_+ - \frac{v_o}{A}\right)}{R_i} = \frac{\left(v_+ - \frac{v_o}{A}\right) - v_o}{R_f}$$

Es importante destacar que, como consecuencia de la Ecuación 3-2, la tensión v_- en el punto suma S con respecto al circuito base es prácticamente despreciable frente a v_i o v_o . En definitiva, dado que A es muy elevado (10^4 a 10^6), v_o/A es sumamente pe-

queño y $v_+ = 0$, el valor de $(v_+ - v_o/A)$ de la Ecuación 3-5 se aproxima mucho a cero, y la anterior ecuación se simplifica a

$$\frac{v_o}{v_i} \approx -\frac{R_f}{R_i} \quad (3-7)$$

Por tanto, la ganancia v_o/v_i de un amplificador operacional con realimentación negativa típico depende únicamente de R_f y de R_i , y es independiente de las fluctuaciones en las características de funcionamiento y de ganancia del propio amplificador. El circuito con el amplificador operacional de la Figura 3-4 se denomina a menudo *amplificador inversor* o *inversor* cuando $R_i = R_f$, dado que el signo de la tensión de entrada queda invertido.

3B-2. Respuesta en frecuencia de un circuito con realimentación negativa

La ganancia de un amplificador operacional clásico disminuye rápidamente como respuesta a las señales de entrada de frecuencia elevada. Esta dependencia de la frecuencia proviene de las pequeñas capacitancias que se generan en los transistores que contiene el amplificador operacional. Para un amplificador típico, la respuesta en frecuencia suele darse en forma de un *diagrama de Bode*, como el de la Figura 3-5. En él, la curva de trazo continuo denominada *ganancia en lazo abierto* representa el comportamien-

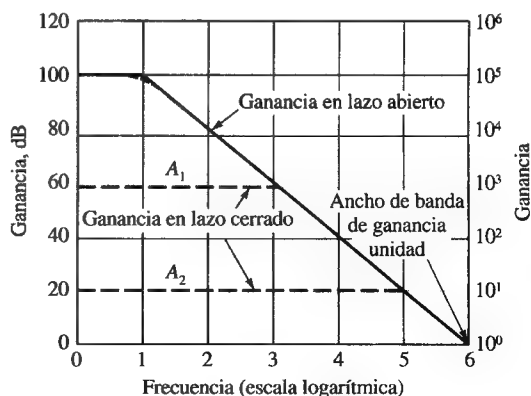


Figura 3-5. Diagrama de Bode que muestra el efecto de la frecuencia en un amplificador operacional típico. Línea continua: ganancia en lazo abierto del amplificador operacional sin realimentación negativa; línea discontinua: configuración de un amplificador inversor como el de la Figura 3-4 con $A_1 = 1.000$ y $A_2 = 10$.

to del amplificador en ausencia de la resistencia de realimentación R_f de la Figura 3-4. Obsérvese que tanto las ordenadas como las abscisas son escalas logarítmicas, y que la ganancia está expresada en decibelios, o dB, donde $1 \text{ dB} = 20 \log (v_o/v_i)$.

Para señales de entrada de baja frecuencia, $A = 10^5$ o 100 dB; pero a medida que la frecuencia aumenta por encima de los 10 Hz, la ganancia en lazo abierto decae a un ritmo de -20 dB/dec de la misma manera que un filtro de paso bajo. El intervalo de frecuencia desde corriente continua hasta la frecuencia que hace $A = 1$ o 0 dB se denomina *ancho de banda de ganancia unidad*, siendo para este amplificador de 1 MHz. El punto en el que $A = 1$ fija también el *ancho de banda producto* en 1 MHz, que es una característica constante del amplificador operacional para todas las frecuencias por encima de 10 Hz. Esta característica permite el cálculo del ancho de banda de una configuración amplificadora dada.

Como ejemplo, considérese el amplificador de la Figura 3-4 con una ganancia de señal de $A_1 = = R_f/R_i = 1.000$ como indica la línea discontinua superior de la Figura 3-5. El ancho de banda del amplificador es, por tanto, $1 \text{ MHz}/1.000 = 1 \text{ kHz}$, que corresponde a la intersección de la línea superior discontinua y la curva de ganancia en lazo abierto. Un amplificador similar con $A_2 = 10$ tiene un ancho de banda de 100 kHz como indica la línea discontinua inferior, y así sucesivamente para otros valores de ganancia de señal que se puedan elegir para un amplificador dado. De todo ello se deduce que la realimentación negativa incrementa el ancho de banda del amplificador, el cual puede calcularse a partir de la ganancia de señal y del ancho de banda del amplificador operacional.

En la Figura 3-6 se ilustran otros dos parámetros relacionados con la velocidad y el ancho de banda Δf de un amplificador. La respuesta de salida de un seguidor de tensión (que se comentará en el siguiente apartado) a un escalón de entrada está caracterizada por el *tiempo de subida*, t_r , que es el tiempo requerido por la señal de salida para cambiar de un 10 por 100 a un 90 por 100 del cambio total en la señal. Se puede demostrar que

$$t_r = \frac{1}{3\Delta f} \quad (3-8)$$

Para el amplificador con $A_2 = 10$ anteriormente comentado, $t_r = 1/(3 \times \text{MHz}) = 0,33 \mu\text{s}$. Se puede

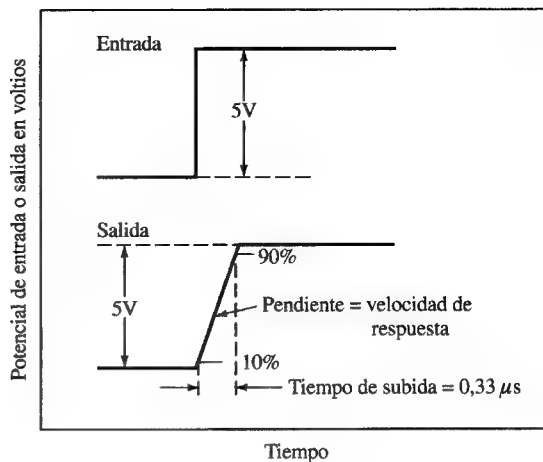


Figura 3-6. Respuesta de un amplificador operacional a una entrada en escalón de variación rápida. La pendiente de la fracción de la señal de salida cambiante es la velocidad de respuesta, y el tiempo requerido por la salida para una variación desde el 10 por 100 hasta el 90 por 100 de la variación total es el *tiempo de subida*.

calcular la *velocidad de respuesta* a partir de la pendiente de la variación de tensión en la salida cuando varía de 5 V a 10 V. Según la ecuación

$$\text{velocidad de respuesta} = \frac{\Delta v}{\Delta t} = \frac{5 \text{ V}}{0,33 \mu\text{s}} = 17 \text{ V}/\mu\text{s} \quad (3-9)$$

La velocidad de respuesta es la máxima velocidad de variación de la salida de un amplificador a una entrada que se produce en forma de escalón. Los valores típicos de velocidades de respuesta son del orden de voltios por microsegundo, aunque algunos amplificadores operacionales especiales presentan velocidades de respuesta de hasta varios cientos de voltios por microsegundo.

3B-3. El circuito seguidor de tensión

La Figura 3-7 representa un *seguidor de tensión*, un circuito en el que la entrada se conecta a la terminal *no inversora* e incluye un circuito de realimentación desde la salida hasta la terminal *inversora*. Dado que un amplificador operacional actuará de forma que se igualen v_- y v_+ , y teniendo presente que v_- y v_o están eléctricamente unidos, se pueden escribir las siguientes igualdades:

$$v_i = v_+ \approx v_- = v_o$$

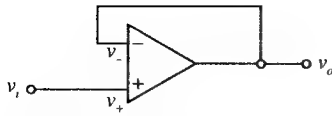


Figura 3-7. Amplificador operacional seguidor de tensión.

Por tanto, aunque este circuito tenga una ganancia de tensión igual a uno ($v_o/v_i = 1$), puede obtenerse una ganancia de potencia muy grande porque los amplificadores operacionales tienen elevadas impedancias de entrada pero pequeñas impedancias de salida. Para mostrar el efecto de esta gran diferencia en impedancia, se define la *ganancia de potencia* como P_o/P_i , en la que P_o es la potencia de la salida del amplificador operacional y P_i es la potencia de entrada. Sustituyendo en esta definición la ley de la potencia ($P = iv = v^2/R$) y la ley de Ohm, y recordando que en un circuito amplificador operacional v_o y v_i son aproximadamente iguales, se obtiene la expresión

$$\text{ganancia de potencia} = \frac{P_o}{P_i} = \frac{i_o v_o}{i_i v_i} = \frac{v_o^2/Z_o}{v_i^2/Z_i} = \frac{Z_i}{Z_o}$$

en la que Z_i y Z_o son las impedancias de entrada y de salida del amplificador operacional. Este resultado es importante porque significa que el seguidor de tensión casi no extraerá corriente de la entrada pero, a través de los componentes del circuito del amplificador operacional y de la fuente de alimentación, puede suministrar grandes corrientes a la terminal de salida. Como se verá más adelante, ésta es una propiedad importante para la medida de fuentes de elevada impedancia utilizando dispositivos de medida de baja impedancia. Un ejemplo importante de este tipo de proceso de medida es el control de electrodos de vidrio mediante un aparato registrador de banda.

3C. AMPLIFICACIÓN Y MEDIDA DE LAS SEÑALES DE UN TRANSDUCTOR

Los amplificadores operacionales se utilizan por lo general para la amplificación y medida de las señales eléctricas de los detectores. Estas señales, que muchas veces dependen de la concentración en instrumentos analíticos, son de intensidad, potencial y carga. Este apartado incluye aplicaciones sencillas

de los amplificadores operacionales para la medida de cada tipo de señal.

3C-1. Medida de la intensidad

La medida exacta de pequeñas intensidades es importante en distintos métodos analíticos como la voltamperometría, la coulombimetría, la fotometría y los detectores de ionización muy utilizados en cromatografía de gases. Como se indica en el Capítulo 2, una preocupación importante que se plantea en todas las medidas físicas, incluyendo la de la intensidad, es si el proceso de medida alterará significativamente, por sí mismo, la señal que se mide, produciendo de esta forma un error de carga. Es inevitable que cualquier proceso de medida perturbe el sistema en estudio, de modo que la cantidad realmente medida difiera del valor inicial antes de la medida. Se debe intentar asegurar que la perturbación sea pequeña. Para una medida de intensidad, esta consideración requiere que la resistencia interna del dispositivo de medida se minimice, de forma que no altere significativamente la intensidad.

Se puede obtener fácilmente un dispositivo de baja resistencia para la medida de la intensidad eliminando la resistencia R_i en la Figura 3-4 y usando como señal de entrada la corriente que hay que medir. En la Figura 3-8 se muestra una disposición de este tipo, en la que una pequeña corriente continua I_x se genera en un fototubo y un detector que convierte energía radiante como la luz en una corriente eléctrica. Cuando el cátodo del fototubo se mantiene a un potencial cercano a -90 V, la absorción de radiación por su superficie da lugar a la emisión de electrones que son acelerados hacia el ánodo que es el filamento, originándose una corriente que es directamente proporcional a la potencia del haz radiante.

Si las conclusiones obtenidas en el tratamiento de la realimentación se aplican a este circuito, se puede escribir

$$I_x = I_f + I_s \approx I_f$$

Además, el punto S está en una toma de tierra virtual, de modo que la tensión V_o corresponde a la diferencia de potencial en bornes de la resistencia R_f . Por tanto, mediante la ley de Ohm

$$V_o = -I_f R_f = -I_x R_f$$

y

$$I_x = -V_o/R_f = kV_o$$

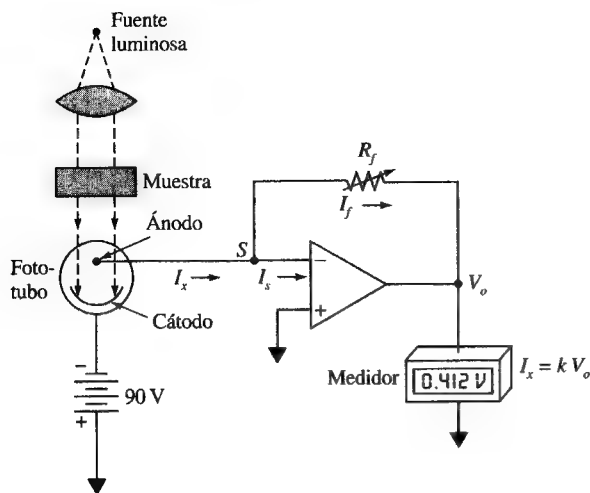


Figura 3-8. Aplicación de un amplificador operacional a la medida de una fotocorriente pequeña I_x .

Así pues, la medida del potencial V_o da la intensidad, siempre que se conozca R_f . Aumentando razonablemente el valor de R_f es posible medir con exactitud intensidades pequeñas. Por ejemplo, si R_f es $100 \text{ k}\Omega$, una intensidad de $1 \mu\text{A}$ produce un potencial de salida de $0,1 \text{ V}$, una cantidad que se mide fácilmente con un elevado grado de exactitud y de precisión.

Como se muestra en el siguiente ejemplo, una propiedad importante del circuito de la Figura 3-8 es su baja resistencia en relación a la corriente del detector. Por tanto, el medidor no es gobernado por el detector sino por la corriente amplificada de la fuente de alimentación externa del amplificador operacional. El resultado es un error de medida mínimo.

EJEMPLO 3-1

Suponiendo que en la Figura 3-8, R_f es $200 \text{ k}\Omega$, que la resistencia interna del fototubo es $5,0 \times 10^4 \Omega$ y que la ganancia en lazo abierto del amplificador es $1,0 \times 10^5$. Calcular el error relativo en la medida de la intensidad debido al circuito de medida.

En este caso, la resistencia del circuito de medida R_m es la resistencia entre el punto suma S y el circuito básico. Esta resistencia viene dada por la ley de Ohm. Esto es

$$R_m = \frac{v_-}{I_x} = \frac{v_+ - V_o/A}{I_x} = -\frac{V_o/A}{I_x}$$

donde v_+ es el potencial en la terminal no inversora, v_- es el potencial en la terminal inversora y A es la ganancia en lazo abierto. También se puede escribir (Ecuación 3-5)

$$I_f = \frac{v_- - V_o}{R_f} = \frac{v_+ - V_o/A - V_o}{R_f} = \frac{V_o/A - V_o}{R_f} = I_x$$

Combinando estas dos ecuaciones y reordenando resulta

$$R_m = \frac{V_o/A}{(V_o/A - V_o)/R_f}$$

Pero como $V_o/A - V_o \approx -V_o$ en el denominador, la anterior ecuación queda

$$R_m = \frac{R_f}{A}$$

Sustituimos los valores numéricos dados

$$R_m = 200 \times 10^3 \Omega / 1,0 \times 10^5 = 2,0 \Omega$$

La Ecuación 2-15 indica que el error relativo de carga en la medida de corriente viene dado por

$$\text{error rel} = \frac{-R_m}{R_L + R_m}$$

donde R_L es la resistencia de carga del fototubo en ausencia de la resistencia del dispositivo de medida R_m . Así pues

$$\begin{aligned} \text{error rel} &= \frac{-2,0 \Omega}{5,0 \times 10^4 \Omega + 2,0 \Omega} \\ &= -4,0 \times 10^{-5} \quad \text{o} \quad -0,004 \% \end{aligned}$$

El instrumento que se muestra en la Figura 3-8 se denomina fotómetro; mide la atenuación de un haz de luz debida a la absorción de un analito coloreado en una solución; este parámetro depende de la concentración de la especie responsable de la absorción. Los fotómetros se describen detalladamente en el Apartado 13D-3.

3C-2. Medida del potencial

Las medidas de potenciales se usan ampliamente para la determinación de la temperatura y de la concentración de iones en disolución. En el primer caso, el detector es un termopar; en el segundo, es un electrodo selectivo de iones.

La Ecuación 2-14 muestra que las medidas de potencial exactas requieren que la resistencia del dispositivo de medida sea grande respecto a la resistencia interna de la fuente de potencial que se mide. La necesidad de un dispositivo de medida con resistencia alta es crítica en la determinación del pH con un electrodo de vidrio, que típicamente tiene una resistencia interna del orden de decenas a centenares de megaohmios. Debido a la alta resistencia, el amplificador inversor básico que se muestra en la Figura 3-4 no es adecuado para la medida de potenciales, dado que su resistencia interna es de unos $10^5 \Omega$. Por otra parte, un amplificador inversor puede combinarse con un seguidor de tensión como el de la Figura 3-7 para obtener un dispositivo de medida de potencial con una impedancia elevada. Un ejemplo de este circuito se muestra en la Figura 3-9. La primera parte comprende un seguidor de tensión, que proporciona una impedancia característica de entrada de más de $10^{12} \Omega$. Seguidamente se encuentra un circuito amplificador inversor, que amplifica la entrada por R_f/R_i o por 20 en este caso. Un amplificador como éste, con una resistencia de $100 \text{ M}\Omega$ o más se suele denominar *electrómetro*. Existen en el mercado electrómetros, con amplificadores operacionales especialmente diseñados para este propósito.

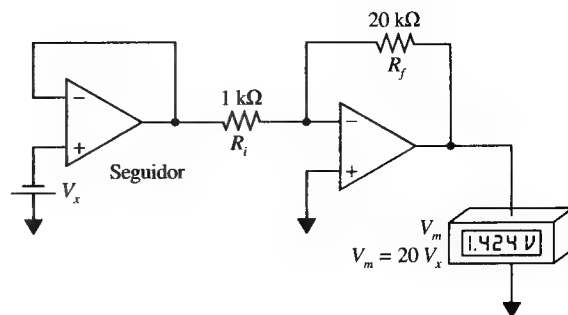


Figura 3-9. Circuito de alta impedancia para la amplificación de tensión.

plea una fuente de corriente alterna de tensión constante para V_i y el detector se ha sustituido por R_i o R_f en el circuito. El potencial de salida amplificado v_o después de haber sido rectificado y filtrado, se mide con un medidor adecuado, ya sea un potenciómetro o bien por un sistema de almacenamiento de datos computerizados. Si el detector se sustituye por R_f en la Figura 3-4, la salida, como puede verse reordenando la Ecuación 3-7, es

$$R_x = -\frac{v_o R_i}{V_i} = k v_o \quad (3-10)$$

en la que R_x es la resistencia que se mide y k es una constante que se puede calcular si se conocen R_i y V_i ; de manera alternativa, k se puede determinar mediante una calibración en la que una resistencia patrón reemplaza a R_x .

Si interesa más la conductancia que la resistencia, el detector puede sustituir adecuadamente a la R_i del circuito. A partir de la Ecuación 3-7, se obtiene que

$$\frac{1}{R_x} = G_x = -\frac{v_o}{V_i R_f} = k' v_o \quad (3-11)$$

en la que G_x es la conductancia que se desea medir. Obsérvese que en uno u otro tipo de medidas, el valor de k , y consecuentemente el intervalo de los valores medidos, puede modificarse fácilmente usando una resistencia variable R_i o R_f .

La Figura 3-10 ilustra dos aplicaciones sencillas de los amplificadores operacionales para la medida de la conductancia o la resistencia. En (a) interesa conocer la conductancia de una celda de valoración conductimétrica. En este caso, una fuente de alimentación de corriente alterna propor-

3C-3. Medidas de resistencia o de conductancia

Las celdas electrolíticas y los dispositivos de respuesta a la temperatura, tales como termistores y bolómetros, son ejemplos comunes de detectores cuya resistencia eléctrica o conductancia varía como respuesta a una señal analítica. Estos dispositivos se utilizan para valoraciones conductimétricas y termométricas, para medidas de absorción y emisión en el infrarrojo y para el control de la temperatura en diferentes aplicaciones analíticas.

El circuito de la Figura 3-4 constituye un medio adecuado para la medida de la resistencia o de la conductancia de un detector. En este caso, se em-

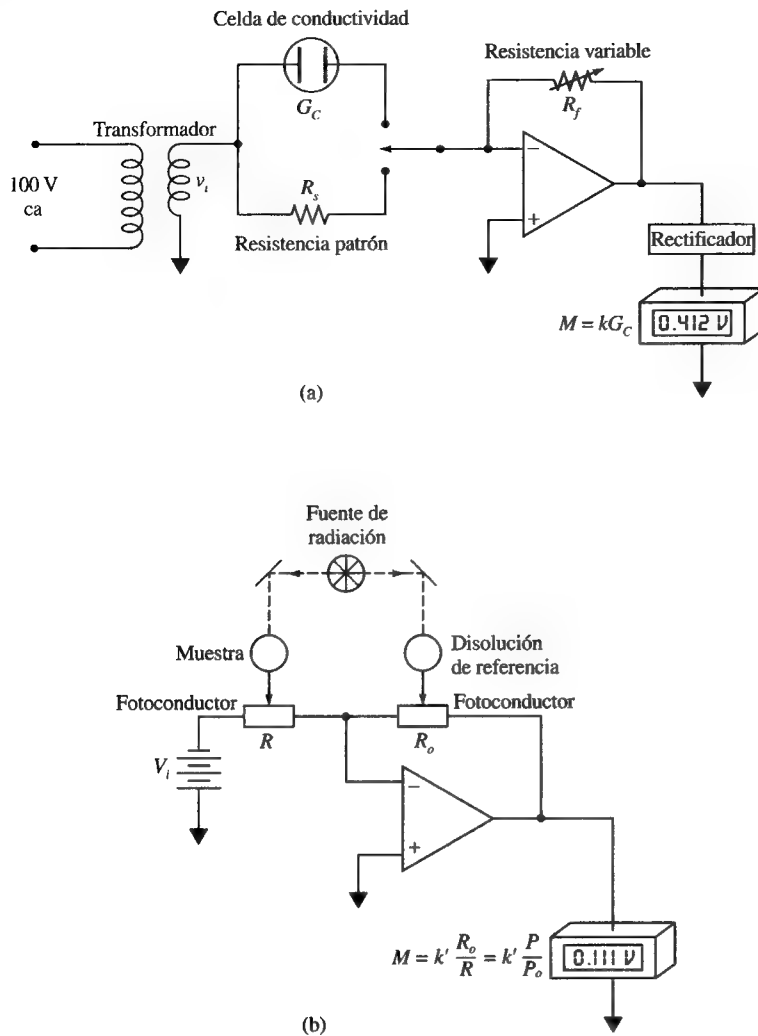


Figura 3-10. Dos circuitos para detectores cuyas conductancias y resistencias son las variables experimentales de interés. (a) La salida del elemento es una intensidad proporcional a la conductancia del electrólito. (b) El cociente de las resistencias del elemento fotoconductor es proporcional a la lectura del medidor.

ciona una señal de entrada de corriente alterna v_i de unos 5 a 10 V. A continuación, la señal de salida se rectifica, se filtra y se mide como un potencial de corriente continua. La resistencia variable R_f permite variar el intervalo de conductancias que pueden registrarse o leerse. La calibración se realiza conmutando la resistencia patrón R_s del circuito en lugar de la celda de conductividad.

La Figura 3-10b ilustra cómo el circuito de la Figura 3-4 puede aplicarse para medir un cociente de resistencias o de conductancias. En este caso, la absorción de energía radiante por una muestra se compara con la de una disolución de referencia. Los dos detectores de fotoconductividad, que son dispositivos cuyas resistencias están inversamente relacionadas con la intensidad de la luz que incide sobre sus superficies activas, reemplazan a R_f y R_i

en el circuito de la Figura 3-4. Una fuente de alimentación de corriente continua sirve como fuente de potencia, y el potencial de salida M , según la Ecuación 3-7 es

$$M = V_0 = -V_i \frac{R_0}{R}$$

Por lo general, la resistencia de una celda fotoconductor es inversamente proporcional a la potencia radiante P de la radiación que incide sobre ella. Si R y R_0 son fotoconductores equiparables

$$R = C \cdot \frac{1}{P} \quad \text{y} \quad R_0 = C \cdot \frac{1}{P_0}$$

donde C es una constante para ambas celdas fotoconductoras, se tiene

$$V_0 = M = -V_i \frac{C/P_0}{C/P} = -V_i \frac{P}{P_0} \quad (3-12)$$

Así pues, la lectura obtenida M es proporcional al cociente de las potencias radiantes de los dos haces (P_0/P).

3C-4. Comparación de las salidas de los transductores

En muchas ocasiones es aconsejable medir la señal generada por un analito comparándola con una señal de referencia, como en la Figura 3-10b. Para esta finalidad se puede utilizar un amplificador diferencial, como el que se muestra en la Figura 3-11. En este caso, el amplificador se usa para una medida de temperatura. Obsérvese que las dos resistencias de entrada (R_i) son iguales; de igual manera, la resistencia de realimentación y la resistencia entre la terminal no inversora y la toma de tierra, ambas simbolizadas por R_k , son también iguales.

Aplicando la ley de Ohm al circuito de la Figura 3-11 resulta (véanse Ecuaciones 3-5 y 3-6)

$$I_1 = \frac{V_1 - v_-}{R_i}$$

y

$$I_f = \frac{v_- - V_o}{R_k}$$

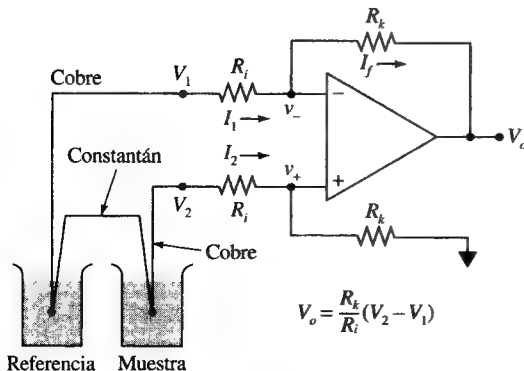


Figura 3-11. Amplificador operacional diferencial midiendo la tensión de salida de una pareja de termopares.

Dado que el amplificador operacional tiene una impedancia de entrada elevada, I_i e I_f son aproximadamente iguales.

$$I_i \approx I_f$$

$$\frac{V_1 - v_-}{R_i} = \frac{v_- - V_o}{R_k}$$

Resolviendo esta ecuación para v_- resulta

$$v_- = \frac{V_1 R_k + V_o R_i}{R_k + R_i} \quad (3-13)$$

El potencial v_+ puede escribirse en términos de V_2 mediante la ecuación del divisor de tensión, Ecuación 2-9:

$$v_+ = V_2 \left(\frac{R_k}{R_i + R_k} \right) \quad (3-14)$$

Recuérdese que un amplificador operacional con un circuito de realimentación negativa actuará de modo que se cumpla la ecuación $V_1 \approx V_2$. Cuando las Ecuaciones 3-13 y 3-14 se sustituyen en esta relación, se obtiene, después de reordenarla

$$V_o = \frac{R_k}{R_i} (V_2 - V_1) \quad (3-15)$$

Es decir, se amplifica la diferencia entre las dos señales. Cualquier potencial externo común a los dos terminales de entrada mostrados en la Figura 3-10 se anulará y no aparecerá en la señal de salida. Debido a ello, cualquier deriva lenta en la señal de salida de los detectores o cualquiera de las corrientes de 60 ciclos⁴ inducida por la instalación eléctrica del laboratorio se eliminarán de V_o . Esta propiedad de gran utilidad explica que normalmente se utilice un circuito diferencial en la primera etapa amplificadora de muchos instrumentos.

Una característica importante de los circuitos con amplificadores operacionales, como el amplificador diferencial anteriormente estudiado, es la *fracción de rechazo del modo común*, o CMRR. La fracción de rechazo del modo común de un amplificador diferencial es una medida de cómo el amplificador rechaza señales que son comunes a las dos entradas; es el cociente entre la ganancia en

⁴ 60 ciclos utilizado en USA.

modo diferencial A_d y la ganancia en modo común A_{cm} ; esto es

$$\text{CMRR} = \frac{A_d}{A_{cm}}$$

Supongamos que aplicamos señales idénticas a las entradas V_1 y V_2 , que $R_k = 1.000R_i$ y que $V_o = 0,1 V_2$. Si el amplificador diferencial fuese ideal, V_o sería cero. En los amplificadores diferenciales reales, una parte de V_2 aparece en la salida, que es la señal que debe ser rechazada. Esta señal a rechazar V_2 , o señal de modo común, hace que la ganancia en modo común sea $A_{cm} = V_o/V_2 = 0,1$. La ganancia en modo diferencial, corresponde a la ganancia del amplificador diferencial que es $A_d = R_k/R_i = 1.000$. La fracción de rechazo del modo común para esta configuración resulta

$$\text{CMRR} = \frac{A_d}{A_{cm}} = 1.000/0,1 = 10.000$$

Cuanto mayor sea la fracción de rechazo del modo común de un amplificador diferencial, mejor rechazará las señales de modo común.

Los detectores de la Figura 3-11 son un par de uniones termopares, una de ellas está sumergida en la muestra y la otra en una disolución de referencia (normalmente un baño de hielo) mantenida a temperatura constante. Un potencial de contacto dependiente de la temperatura se desarrolla en cada una de las dos uniones hechas con hilo de cobre y de una aleación llamada constantán (también se usan otros pares metálicos). La diferencia de potencial $v_2 - v_1$ es de aproximadamente 5 mV por cada 100 °C de variación de temperatura.

3D. APLICACIÓN DE LOS AMPLIFICADORES OPERACIONALES AL CONTROL DE LA TENSIÓN Y DE LA INTENSIDAD DE CORRIENTE

Los amplificadores operacionales se utilizan ampliamente para generar señales de tensión o de intensidad constantes.

3D-1. Fuentes de tensión constante

Diversos métodos instrumentales precisan una fuente de potencia de corriente continua de poten-

cial exactamente conocido y del cual puedan obtenerse intensidades razonables sin que el potencial sufra alteraciones en su valor. Un circuito que cumple estos requisitos se denomina *potenciostato*.

En la Figura 3-12 se muestran dos potenciostatos. Ambos utilizan una fuente de potencial estándar en un circuito de realimentación. Esta fuente generalmente está constituida por un circuito integrado Zener estabilizado (véase Capítulo 2, Apartado 2D-3) barata y disponible en el comercio, capaz de originar una tensión de salida que se mantenga constante con una variación máxima de unas centésimas por ciento. Sin embargo, dicha fuente no mantendrá su tensión cuando sea precisa una corriente grande.

Recuérdese que en un apartado anterior se obtuvo que el punto S de la Figura 3-12a está en una toma de tierra virtual. Para que se cumpla esta

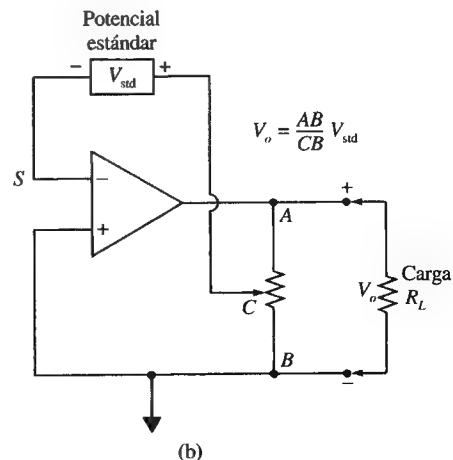
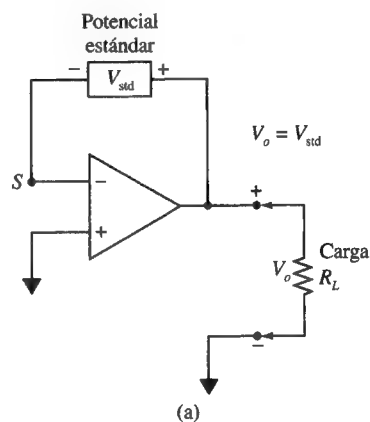


Figura 3-12. Fuentes de tensión constante.

condición, es preciso que $V_o = V_{std}$. Esto es, la corriente por la resistencia de carga R_L debe ser tal que $I_L R_L = V_{std}$. Es importante tener en cuenta, sin embargo, que esta corriente proviene de la fuente de potencia del amplificador operacional y *no de la fuente de tensión estándar*. Apenas circula corriente por el circuito de realimentación al ser la impedancia de la terminal inversora muy grande. Por tanto, la tensión estándar controla V_o pero prácticamente no proporciona corriente a través de la resistencia de carga.

La Figura 3-12b ilustra una modificación del circuito (a) que permite fijar la tensión de salida del potenciómetro a un valor conocido que sea múltiplo de la tensión de salida de la fuente de tensión estándar.

3D-2. Fuentes de intensidad constante

Las fuentes de corriente continua de intensidad constante, llamadas *amperostatos*, se utilizan en distintos instrumentos analíticos. Por ejemplo, estos dispositivos se suelen emplear para mantener una intensidad constante a través de una celda electroquímica. Un amperostato responde a una variación de la potencia de entrada o a un cambio de la resistencia interna de la celda, modificando su tensión de salida de forma que se mantenga la intensidad en un valor predeterminado.

La Figura 3-13 muestra dos amperostatos. El primero necesita una tensión de entrada V_i cuyo potencial se mantenga constante cuando se suministran corrientes apreciables. Teniendo en cuenta algunas consideraciones anteriores se obtiene

$$I_L = I_i = \frac{V_i}{R_i}$$

Así pues, la intensidad será constante e independiente de la resistencia de la celda, siempre que V_i y R_i permanezcan constantes.

La Figura 3-13b representa un amperostato que utiliza una tensión estándar V_{std} para mantener una corriente constante. Obsérvese que el amplificador operacional 1 tiene un circuito de realimentación negativa que incluye al amplificador operacional 2. Para satisfacer la condición $v_- = v_+$ la tensión en el punto suma S debe ser igual a $-V_{std}$. Además, puede escribirse que en S

$$I_i R_i = I_L R_i = -V_{std}$$

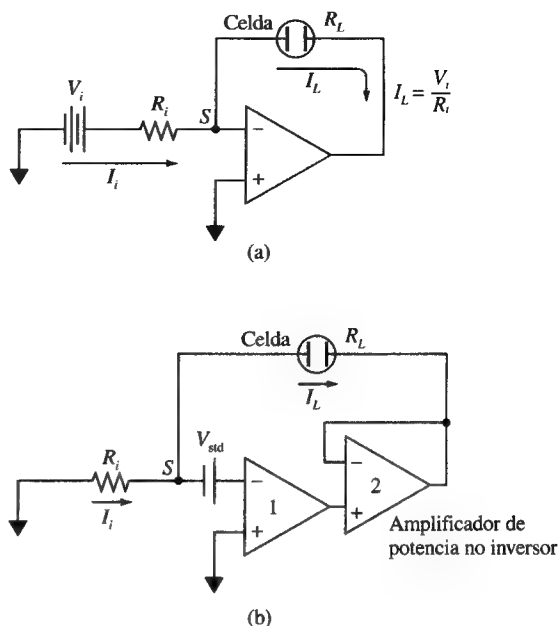


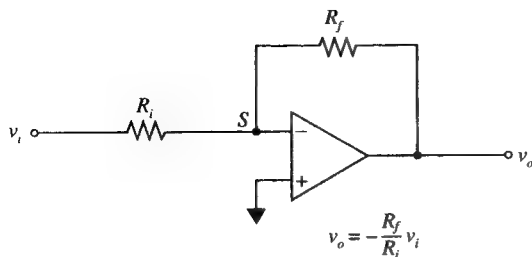
Figura 3-13. Fuentes de intensidad constante.

Como en esta ecuación R_i y V_{std} son constantes, el amplificador operacional funciona de tal manera que I_L se mantiene en un valor constante determinado por R_i .

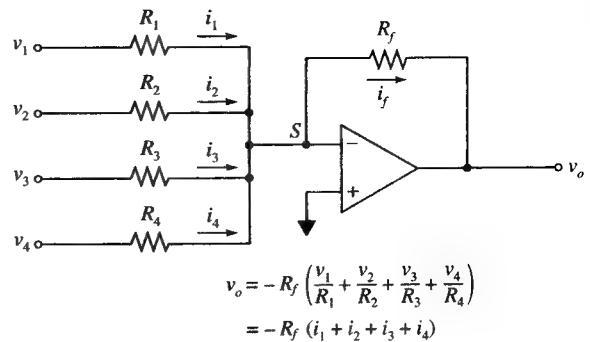
El amplificador operacional 2 de la Figura 3-12b es sencillamente un seguidor de tensión que se ha colocado en el circuito de realimentación del amplificador operacional 1. A menudo, a un seguidor de tensión como el que se usa en esta configuración se le denomina amplificador de refuerzo no inversor, ya que puede proporcionar la corriente relativamente grande que se requiere del amperostato.

3E. APLICACIÓN DE LOS AMPLIFICADORES OPERACIONALES A OPERACIONES MATEMÁTICAS

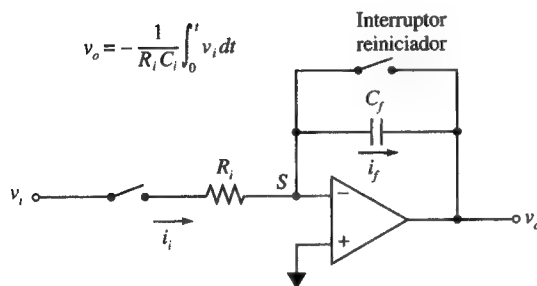
Tal como se muestra en la Figura 3-14, la sustitución de R_i y R_f en el circuito de la Figura 3-4 por diversos elementos de un circuito, permite realizar diversas operaciones matemáticas sobre las señales eléctricas como las generadas por un instrumento analítico. Por ejemplo, la salida de una columna cromatográfica suele tomar la forma de un pico cuando la señal eléctrica del detector se representa gráficamente en función del tiempo. Para conocer



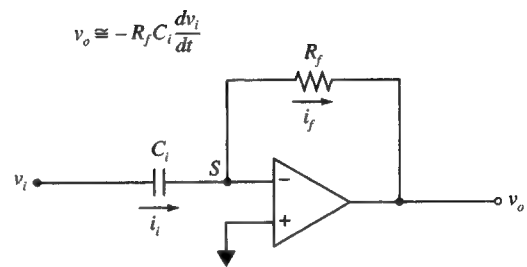
(a) Multiplicación o división



(b) Suma o resta



(c) Integración



(d) Diferenciación

Figura 3-14. Operaciones matemáticas con amplificadores operacionales.

la concentración de analito hay que integrar este pico para determinar su área. El amplificador operacional de la Figura 3-14c puede realizar de forma automática esta integración, proporcionando así una señal que es directamente proporcional a la concentración de analito.

3E-1. Multiplicación y división por una constante

La Figura 3-14a muestra cómo una señal de entrada v_i puede multiplicarse por una constante cuya magnitud es $-R_f/R_i$. La división por una constante se produce cuando esta relación es menor que la unidad.

3E-2. Adición y sustracción

La Figura 3-14b ilustra cómo un amplificador operacional puede producir una señal de salida que sea la suma de varias señales de entrada. Debido a que la impedancia de un amplificador es grande y a que

la salida debe proporcionar una intensidad i_f suficiente para mantener el punto suma S en la toma de tierra virtual, se puede escribir

$$i_f \approx i_1 + i_2 + i_3 + i_4 \quad (3-16)$$

Pero $I_f = -v_o/R_f$, y por tanto se deduce

$$v_o = -R_f \left(\frac{v_1}{R_1} + \frac{v_2}{R_2} + \frac{v_3}{R_3} + \frac{v_4}{R_4} \right) \quad (3-17)$$

Si $R_f = R_1 = R_2 = R_3 = R_4$, la tensión de salida es la suma de las cuatro entradas pero con signo opuesto.

$$v_o = -(v_1 + v_2 + v_3 + v_4)$$

Para obtener el promedio de las cuatro señales, hacemos $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = 4R_f$. Sustituyendo en la Ecuación 3-17 tenemos

$$v_o = -\frac{R}{4} \left(\frac{v_1}{R} + \frac{v_2}{R} + \frac{v_3}{R} + \frac{v_4}{R} \right)$$

y v_o se convierte en el promedio de las cuatro entradas. Por tanto,

$$v_o = \frac{-(v_1 + v_2 + v_3 + v_4)}{4} \quad (3-18)$$

De forma similar puede obtenerse una media ponderada variando la relación de los valores de las resistencias de entrada.

El circuito de la Figura 3-14b puede realizar restas si se coloca un inversor con $R_i = R_f$ en serie con una o varias resistencias, invirtiendo así el signo de una o más de las entradas.

3E-3. Integración

La Figura 3-14c ilustra un circuito para la integración de una señal de entrada variable v_i con respecto al tiempo. Cuando el interruptor reiniciador está abierto y el interruptor de mantenimiento está cerrado,

$$i_i = i_f$$

y el condensador C_f empieza a cargarse. La corriente del condensador i_f viene dada por la Ecuación 2-25 o

$$i_f = -C \frac{dv_o}{dt}$$

Según la ley de Ohm, la intensidad i_i viene dada por $i_i = v_i/R_i$. Así pues, se deduce que

$$\frac{v_i}{R_i} = -C \frac{dv_o}{dt}$$

o

$$dv_o = -\frac{v_i}{R_i C} dt \quad (3-19)$$

Se integra la Ecuación 3-19 para obtener una ecuación de la tensión de salida v_o .

$$\int_{v_{o1}}^{v_{o2}} dv_o = -\frac{1}{R_i C} \int_{t_1}^{t_2} v_i dt \quad (3-20)$$

o

$$v_{o2} - v_{o1} = -\frac{1}{R_i C} \int_{t_1}^{t_2} v_i dt \quad (3-21)$$

La integral se obtiene normalmente abriendo primero el interruptor de mantenimiento y cerrando el interruptor reiniciador para descargar el condensador, llegando a ser $v_{o1} = 0$ cuando $t_1 = 0$. Entonces la Ecuación 3-21 se simplifica, quedando

$$v_o = -\frac{1}{R_i C} \int_0^t v_i dt \quad (3-22)$$

Para empezar la integración, el interruptor reiniciador se abre y el interruptor de mantenimiento se cierra. La integración finaliza en un tiempo t al abrir el interruptor de mantenimiento. La integral a lo largo del período de 0 a t es v_o .

3E-4. Diferenciación

La Figura 3-14d representa un circuito sencillo para la diferenciación que resulta útil cuando la variable a estudiar es la velocidad de variación de una cantidad experimental con respecto al tiempo. Obsérvese que éste solamente difiere del circuito de integración en que las posiciones de C y R se han intercambiado. Procediendo como en el razonamiento anterior, en este caso, se puede escribir

$$C \frac{dv_i}{dt} = -\frac{v_o}{R_f}$$

o

$$v_o = -R_f C \frac{dv_i}{dt} \quad (3-23)$$

De hecho, el circuito representado en la Figura 3-14d no es adecuado para la mayoría de las aplicaciones químicas en las que la velocidad de cambio en la señal del detector es pequeña. Por ejemplo, la diferenciación es una forma útil de tratar los datos de una valoración potenciométrica; aquí, la variación del potencial objeto de estudio se produce durante un período de un segundo o más ($f \leq 1$ Hz). Sin embargo, la señal de entrada incorporará componentes de tensión externos de 60, 120 y 240 Hz (véase Fig. 5-3), los cuales son inducidos por la fuente de alimentación de corriente alterna. Ade-

más, a menudo se pueden producir fluctuaciones de la señal como consecuencia de una mezcla incompleta de las disoluciones del reactivo y del analito. Desafortunadamente, la salida del circuito de la Figura 3-14d depende en gran medida de la frecuencia; debido a ello, la tensión de salida de las señales externas suele llegar a ser de igual o mayor magnitud que la de la señal de baja frecuencia del detector, aun cuando la magnitud del primer potencial respecto al segundo sea pequeña.

Este problema se soluciona fácilmente colocando en el circuito de realimentación un pequeño condensador C_f en paralelo, y una pequeña resistencia R_i en serie en el circuito de entrada para filtrar los potenciales de alta frecuencia. Estos elementos adicionales son lo suficientemente pequeños como para que la señal analítica no se atenúe de forma significativa. En general, los circuitos amplificadores diferenciadores amplifican el ruido, mientras que los integradores lo atenúan. Por esta razón, se utilizan con más frecuencia los integradores analógicos que los diferenciadores analógicos. En caso de necesitarse una diferenciación de la señal, se procede, normalmente, de manera digital, como se verá en el Capítulo 5.

3E-5. Generación de logaritmos y de antilogaritmos

La incorporación de un transistor externo a un circuito amplificador operacional posibilita generar unas tensiones de salida que sean el logaritmo o antilogaritmo de la tensión de entrada, dependiendo del circuito. Sin embargo, los circuitos amplificadores operacionales de este tipo dependen mucho de la frecuencia y de la temperatura, y su exactitud es baja; además, su uso está limitado a valores de tensión de entrada de sólo una o dos decenas. Existen en el mercado, a un precio entre 20 y 100 dólares, módulos de compensación de la temperatura y de la frecuencia para obtener logaritmos y antilogaritmos, con exactitudes de unas décimas por ciento. Estos circuitos se han utilizado en espectrofotómetros para producir señales proporcionales de absorbancia y también se utilizan en aplicaciones en compresión de datos. Actualmente, los logaritmos y antilogaritmos se suelen calcular de forma numérica con microordenadores más que con amplificadores operacionales.

3F. APLICACIÓN DE LOS AMPLIFICADORES OPERACIONALES A LA CONMUTACIÓN

Otra aplicación importante y muy extendida de los amplificadores operacionales es la conmutación. Circuitos de este tipo se encuentran en una gran variedad de aplicaciones en las que los niveles de señal deben ser controlados y comparados con tensiones de referencia tales como circuitos de muestreo, circuitos de detección de pico, temporizadores analógicos, circuitos diseñados para proporcionar niveles de señal limitados y circuitos en la interfase entre el dominio analógico y el digital. Las Figuras 3-15a y 3-15b muestran dos sencillos circuitos comparadores y sus respuestas de salida respecto a las tensiones de entrada. En el circuito (a), la tensión de entrada se compara con el circuito básico, mientras que en (b) la comparación se hace respecto a una tensión de referencia V_{ref} . El comportamiento de este primer comparador se entiende a partir de la Ecuación 3-1 y considerando que al estar conectada la terminal no inversora a la toma de tierra, $v_+ = 0$, se tiene que

$$\begin{aligned} v_o &= -A(v_- - v_+) \\ &= -Av_- = -Av_{in} \end{aligned}$$

Como se muestra en la representación gráfica de la derecha de la Figura 3-15a, esta ecuación se aplica en una zona limitada a cada lado de una tensión de entrada de 0 V. Para un circuito amplificador operacional característico con una ganancia en lazo abierto de 10^6 , la tensión de salida v_{out} se conmutará de 0 a 10 V cuando la tensión de entrada v_{in} cambie de cero a 10^{-5} V (10 μ V). Como se ve en esta gráfica, la linealidad entre las tensiones de entrada y de salida no se cumplen a tensiones de entrada mayores de aproximadamente 10 μ V o a tensiones de salida superiores a unos 10 V. Además, la tensión de salida llega a ser independiente de la tensión de entrada y alcanza bien el límite positivo o bien el límite negativo de la señal de salida. Algunos amplificadores operacionales tienden a permanecer, al menos temporalmente, en el límite de tensión, aun después de que la tensión de entrada vuelva a cero. Para solucionar este problema y asegurarse que el amplificador operacional se mantiene dentro del intervalo en el que se puede aplicar la Ecuación 3-5, se inserta en el circuito de realimen-

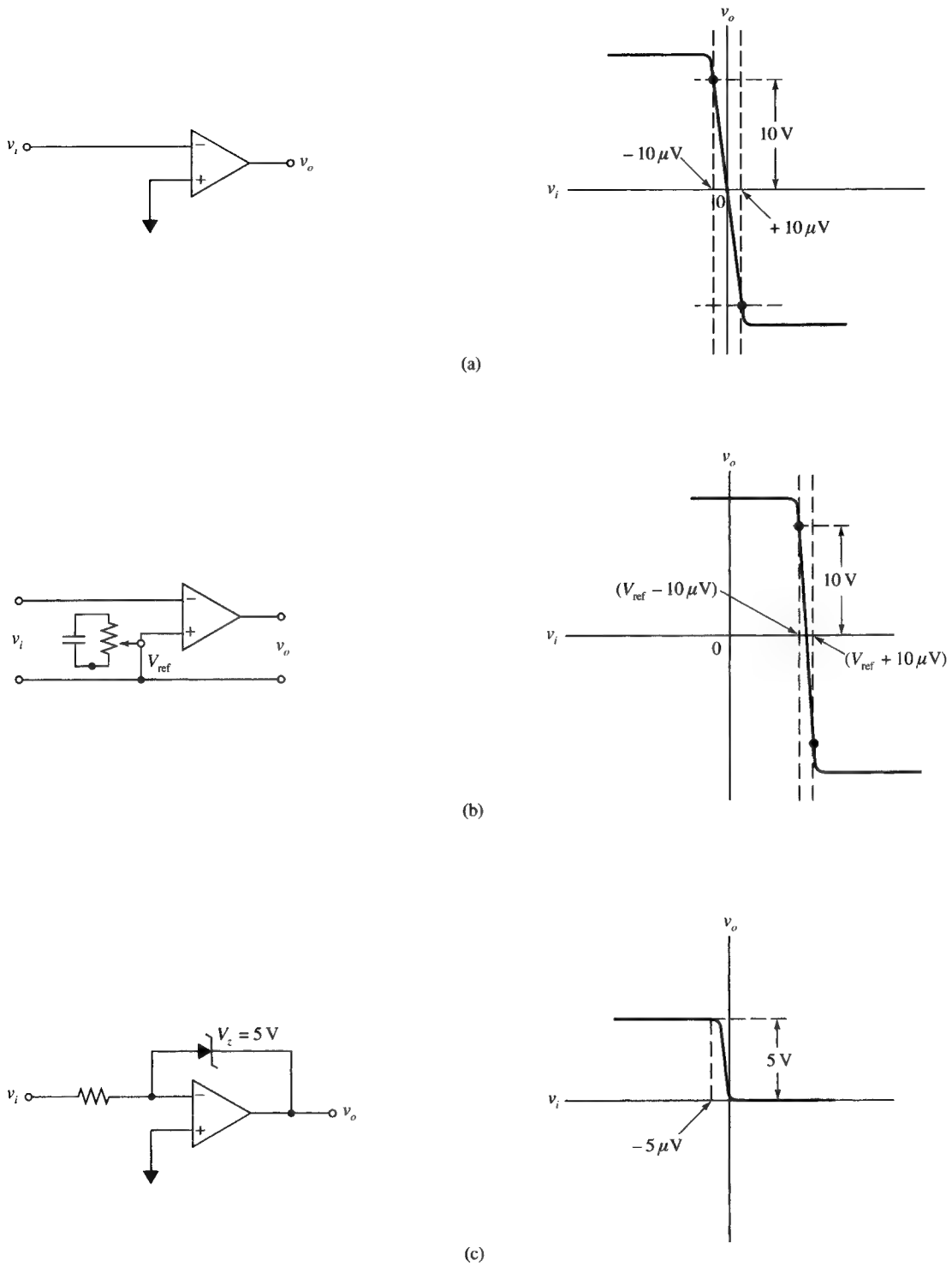


Figura 3-15. Circuitos de conmutación con amplificadores operacionales y sus funciones de transferencia.

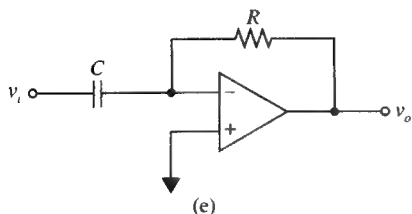
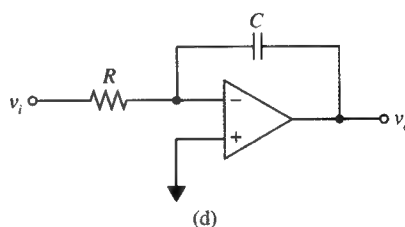
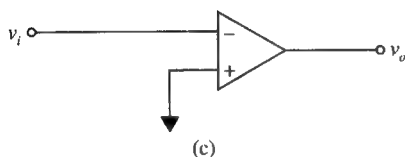
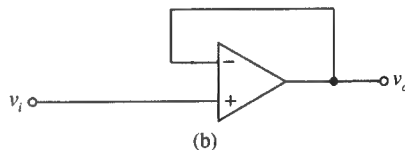
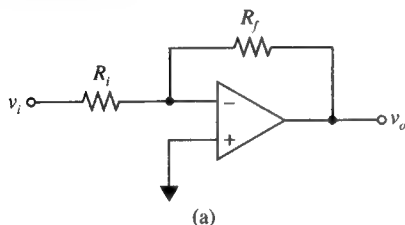
tación, tal como se muestra en la Figura 3-15c, un diodo Zener (Apartado 2D-3) con una tensión límite de menos de 10 V. En este caso, un cambio de tensión de entrada de $5 \mu\text{V}$ hace que el circuito pase de un estado conductor a un estado básicamente no conductor. Así pues, el circuito es un conmutador electrónico que posee sólo dos estados: uno en el que la salida es de 5 V y otro en el que la salida es, como máximo, de unas centésimas de voltio.

Los conmutadores electrónicos del tipo de los indicados en este apartado, presentan al menos dos

ventajas significativas respecto a sus homólogos mecánicos: en primer lugar, son muy sensibles debido a que A es grande; y en segundo lugar, poseen respuestas muy rápidas. Se pueden encontrar circuitos especiales para aplicaciones de conmutación denominados *comparadores*. Estos dispositivos tienen ganancias de 10^6 o incluso mayores y tiempos de respuesta de 200 ns o menos. Estas propiedades son las que hacen que sean tan importantes para ciertas conexiones en ordenadores y en otras aplicaciones de conmutación.

3G. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 3-1.** Una tensión ondulatoria senoidal de baja frecuencia es la señal de entrada de los siguientes circuitos. Dibujar la señal de salida prevista para cada uno de ellos.



- 3-2.** Suponiendo los siguientes valores para los componentes del circuito de la Figura 3-4: $R_i = 1,00 \text{ k}\Omega$, $R_f = 30,0 \text{ k}\Omega$, $A = 200$ y $V_i = 0,910 \text{ mV}$ de corriente continua. Calcular (a) v_o , (b) I_i , (c) I_f .
- 3-3.** Calcular la velocidad de respuesta y el tiempo de subida de un amplificador operacional con un ancho de banda de 50 MHz.
- 3-4.** Hallar el error relativo que se produce cuando se utiliza la Ecuación 3-6, en lugar de otras expresiones más exactas para calcular v_o si $R_i = 2,00 \text{ M}\Omega$, $R_f = 40,0 \text{ M}\Omega$ y $A = 5 \times 10^4$.

3-5. Diseñar un circuito que tenga una señal de salida expresada por

$$-v_o = 3v_1 + 5v_2 - 6v_3$$

3-6. Diseñar un circuito que permita calcular el valor promedio de tres tensiones de entrada multiplicado por 1.000.

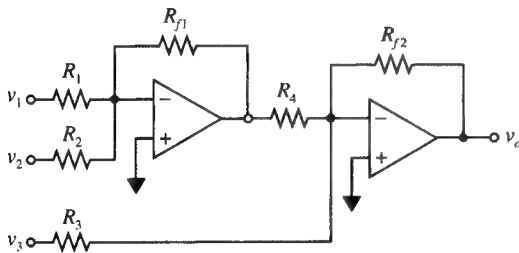
3-7. Diseñar un circuito para realizar la siguiente operación:

$$-y = \frac{1}{10}(5x_1 + 3x_2)$$

3-8. Diseñar un circuito que realice el siguiente cálculo:

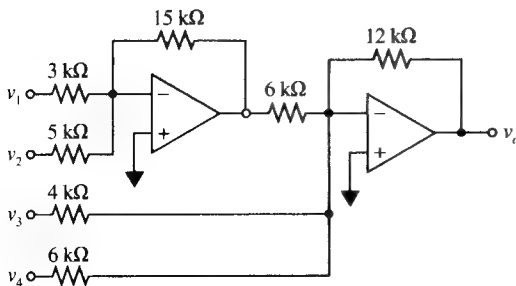
$$-v_o = 4v_i + 1,00 \times 10^3 I_i$$

3-9. Para el siguiente circuito

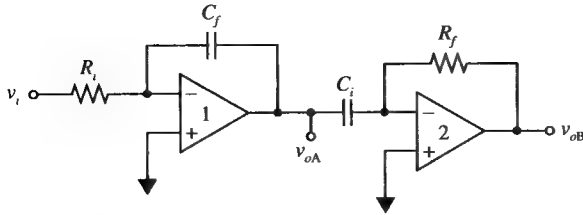


- Escribir una expresión que determine la tensión de salida en función de las tres tensiones de entrada y de las diferentes resistencias.
- Indicar la operación matemática que efectúa el circuito cuando $R_1 = R_{f1} = 200 \text{ k}\Omega$; $R_4 = R_{f2} = 400 \text{ k}\Omega$; $R_2 = 50 \text{ k}\Omega$; $R_3 = 10 \text{ k}\Omega$.

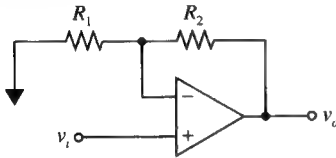
3-10. Indicar la relación algebraica existente entre la tensión de entrada y la de salida para el siguiente circuito:



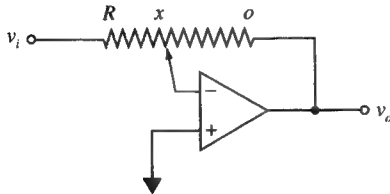
3-11. En el circuito de la figura, dibujar las salidas en v_{oA} y v_{oB} si la entrada inicialmente vale cero, pero se conmuta a un valor positivo de tensión constante a un tiempo cero.



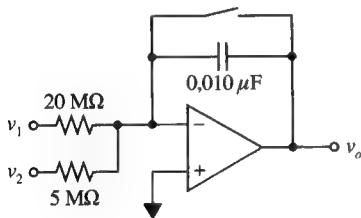
3-12. Deducir una relación entre v_{in} y v_{out} del siguiente circuito:



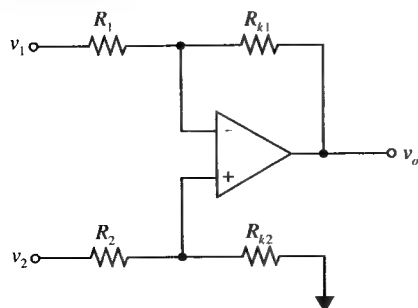
3-13. En el circuito siguiente, R es una resistencia variable. Deducir una ecuación que exprese v_{out} en función de v_{in} y de la posición del contacto móvil del divisor de tensión (x). Realizar la deducción de forma que x sea cero si el circuito de realimentación tiene resistencia cero.



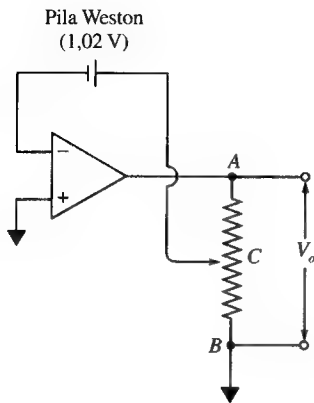
3-14. Deducir una expresión para el potencial de salida del siguiente circuito:



3-15. Demostrar que el siguiente circuito se convierte en un circuito que permite realizar la sustracción cuando las cuatro resistencias son iguales.



- 3-16.** La resistencia variable de hilo AB tiene una longitud de 100 cm. ¿En qué punto debería colocarse el contacto C para proporcionar exactamente un potencial de 3,00 V? El potencial de la pila Weston es de 1,0183 V.



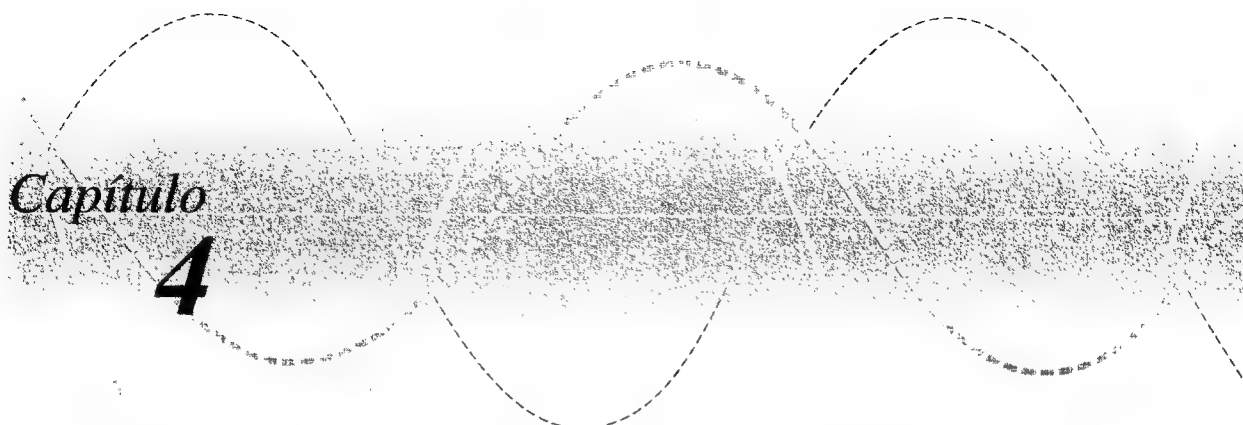
- 3-17.** Diseñar un circuito que origine la siguiente señal de salida:

$$v_o = 4,0 \int_0^t v_1 dt + 5,0 \int_0^t v_2 dt$$

- 3-18.** Diseñar un circuito que origine la siguiente señal de salida:

$$v_o = 2,0 \int_0^t v_1 dt - 6,0(v_2 + v_3)$$

- 3-19.** Representar gráficamente la tensión de salida de un integrador después de 1, 3, 5 y 7 s del inicio de la integración si la resistencia de entrada es de $2,0 \text{ M}\Omega$, el condensador de realimentación de $0,25 \text{ }\mu\text{F}$ y la tensión de entrada de 4,0 mV.



Capítulo

4

Electrónica digital y microordenadores

La velocidad a la que ha crecido la electrónica, la instrumentación y la tecnología de los microordenadores se ha convertido en algo casi inexplicable. Hace tan sólo dos décadas los ordenadores eran aparatos costosos y engorrosos que apenas se veían en los laboratorios químicos; pero en esta última década, la llegada de los microordenadores económicos contruidos en serie con sus dispositivos periféricos asociados han conseguido que los ordenadores sean algo habitual. En la mayoría de los instrumentos de laboratorio se pueden encontrar microordenadores o microprocesadores, incluso en balanzas y medidores de pH. En el Apartado 4D se comenta la diferencia entre microordenadores y microprocesadores.

La proliferación de los instrumentos automatizados y computerizados requiere que los químicos conozcan las ventajas y limitaciones de los modernos dispositivos electrónicos y ordenadores. Aunque para los químicos sea imposible, y tal vez no deseado, el conocimiento de la electrónica y los ordenadores a nivel de diseño, el desarrollo de módulos de circuitos integrados complejos y el hardware de adquisición de datos permite un acer-

camiento conceptual básico a la implementación de la tecnología electrónica y de los ordenadores. Desde este conocimiento básico se puede asumir que un instrumento es un conjunto de módulos funcionales que pueden representarse mediante bloques en un diagrama como los que se muestran en las Figuras 4-2 o 4-13. Con esta aproximación se pueden llevar a cabo medidas fisicoquímicas complejas conectando varios módulos funcionales, circuitos integrados u ordenadores en la secuencia correcta. Normalmente no es necesario saber exactamente cómo es el diseño interno de cada componente individual de un sistema instrumental. Además de facilitar el proceso de aprendizaje, esta aproximación puede ayudar al diagnóstico de fallos en el sistema y a la aplicación adecuada de sistemas instrumentales para la solución de problemas químicos.

Los circuitos digitales presentan ciertas ventajas importantes respecto de sus homólogos analógicos. Por ejemplo, los circuitos digitales son menos susceptibles al ruido ambiental y las señales codificadas de forma digital pueden transmitirse, por lo general, con un mayor grado de integridad

de la misma. En segundo lugar, las señales digitales pueden transmitirse directamente a ordenadores digitales, lo cual quiere decir que el software se puede utilizar para extraer información de las señales de salida de los instrumentos químicos.

Este capítulo puede servir como inicio para un estudio más profundo sobre el uso de los sistemas instrumentales modernos. Los objetivos de este capítulo son: (1) dar una breve visión general de cómo puede codificarse la información digital, (2) presentar algunos de los componentes básicos de los circuitos digitales y de los microordenadores, (3) describir algunas de las interacciones más frecuentes entre instrumentos y ordenadores y (4) mostrar cómo se utilizan los ordenadores y el software en un laboratorio analítico¹.

4A. SEÑALES ANALÓGICAS Y DIGITALES

Como ya se estudió en el Capítulo 1, las señales químicas se codifican en los dominios digitales, analógicos o del tiempo. Un ejemplo de un fenómeno discreto en un dominio no eléctrico que se puede convertir fácilmente al dominio digital es la energía radiante producida por la desintegración de una especie radiactiva. En este caso, la señal está constituida por una serie de impulsos de energía originados por la desintegración de átomos individuales. Estos impulsos se pueden convertir al dominio eléctrico a través de un transductor de entrada apropiado, inicialmente como impulsos analógicos y más tarde como impulsos digitales que se pueden contar. La información resultante se puede interpretar y manipular como un número entero de desintegraciones, lo cual constituye una forma no eléctrica de información.

Es importante tener en cuenta que el hecho de que una señal procedente de un fenómeno químico

sea continua o discreta puede depender de la intensidad de la señal y de cómo se observe. Por ejemplo, la radiación amarilla producida por el calentamiento de iones sodio en una llama se mide, a menudo, con un fotodetector que convierte la energía radiante en una corriente analógica que puede variar de forma continua dentro de un amplio intervalo. Sin embargo, para una radiación de baja intensidad, un detector diseñado adecuadamente puede responder a los fotones individuales, originando una señal formada por una serie de impulsos analógicos que pueden convertirse a impulsos digitales que se pueden contar.

Con frecuencia, en los instrumentos modernos, una señal analógica como la que se muestra en la Figura 4-1a se convierte en una señal digital (Fig. 4-1b) mediante un muestreo y un registro a intervalos regulares de tiempo de la salida analógica. Más adelante se explicará cómo se logra dicha conversión con un convertidor analógico-digital (ADC).

4B. CÓMPUTO Y CÁLCULO CON NÚMEROS BINARIOS

En una medida digital característica, se utiliza un contador electrónico de alta velocidad para contar

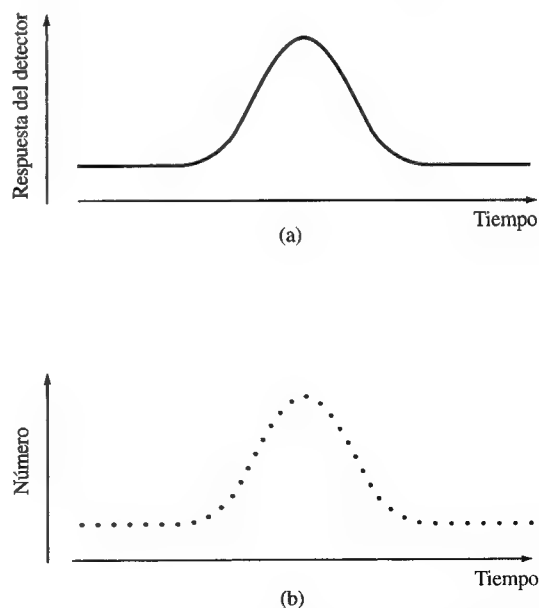


Figura 4-1. Representación gráfica de la respuesta del detector frente al tiempo para la misma señal en el (a) dominio analógico y en el (b) dominio digital.

¹ Para más información, véase H. V. Malmstadt, C. G. Enke y S. R. Crouch, *Microcomputers and Electronic Instrumentation: Making the Right Connections*. Washington DC: American Chemical Society, 1994; A. J. Diefenderfer y B. E. Holton, *Principles of Electronic Instrumentation*, 3.^a ed. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1994; K. L. Ratzlaff, *Introduction to Computer Assisted Experimentation*. New York: Wiley, 1987; S. C. Gates y J. Becker, *Laboratory Automation Using the IBM-PC*. New York: Prentice-Hall, 1989.

el número de sucesos que se originan en unas condiciones específicas límite. El número de fotones emitidos o de partículas alfa desintegradas por segundo emitidas por un analito, el número de gotas de disolución valorada o el número de pasos de un motor paso a paso utilizado para inyectar reactivo con una jeringa, son algunos ejemplos de este tipo de señales. Como condición límite se puede considerar un intervalo de tiempo, como puede ser un segundo, que proporciona la frecuencia de la señal en hercios, o bien un cambio producido en una variable experimental tal como el pH, la absorbancia, la corriente o la tensión.

El cómputo electrónico de estas señales precisa que previamente sean convertidas en niveles de señales digitales para así proporcionar una serie de impulsos de igual tensión compatible con los circuitos digitales del contador. Finalmente estos impulsos son convertidos por el contador en un número binario para ser procesado por un ordenador, o en un número decimal para ser visualizado. El cómputo electrónico se realiza con números decimales codificados en sistema binario (BCD) o bien como números binarios. En ambos sistemas de codificación sólo son necesarios dos dígitos, el 0 y el 1, para representar cualquier número. En los contadores electrónicos, el 0 se representa normalmente por una señal de tensión de aproximadamente 0 V y el 1 por una tensión cuyo valor típico es de 5 V. Es importante resaltar que estos niveles de tensión dependen de la tecnología utilizada y que presentan valores diferentes para las distintas familias lógicas. Por ejemplo, muchos microprocesadores de última generación utilizan aproximadamente 3 V para representar el 1 y 0 V para designar al 0.

4B-1. El sistema de números binarios

Cada dígito del sistema de numeración decimal representa el coeficiente de una potencia de 10. Así, el número 3076 puede escribirse como

$$\begin{array}{rcl}
 3 & 0 & 7 & 6 \\
 \downarrow & \downarrow & \downarrow & \downarrow \\
 & & 6 \times 10^0 = 0006 \\
 & & 7 \times 10^1 = 0070 \\
 & & 0 \times 10^2 = 0000 \\
 & & 3 \times 10^3 = \underline{3000} \\
 & & \text{Suma} = 3076
 \end{array}$$

De forma similar, en el sistema binario de números, a cada dígito le corresponde un coeficiente de una potencia de 2.

4B-2. Conversión de números binarios y decimales

La Tabla 4-1 muestra la relación entre algunos números decimales y binarios. Los ejemplos siguientes indican algunos métodos para las conversiones entre los dos sistemas.

EJEMPLO 4-1

Convertir 101011, número del sistema binario, en un número decimal. Los números binarios se expresan en términos de base 2. Por tanto,

$$\begin{array}{rcl}
 1 & 0 & 1 & 0 & 1 & 1 \\
 \downarrow & \downarrow & \downarrow & \downarrow & \downarrow & \downarrow \\
 & & & & 1 \times 2^0 = 1 \\
 & & & & 1 \times 2^1 = 2 \\
 & & & & 0 \times 2^2 = 0 \\
 & & & & 1 \times 2^3 = 8 \\
 & & & & 0 \times 2^4 = 0 \\
 & & & & 1 \times 2^5 = \underline{32} \\
 & & & & \text{Suma} = 43
 \end{array}$$

EJEMPLO 4-2

Convertir 710 en un número binario.

En un primer paso, se determina la mayor potencia de 2 que sea menor que 710. Por tanto, como $2^{10} = 1,024$,

$$2^9 = 512 \quad y \quad 710 - 512 = 198$$

El proceso se repite para 198:

$$2^7 = 128 \quad y \quad 198 - 128 = 70$$

Siguiendo, se encuentra que

$$2^6 = 64 \quad y \quad 70 - 64 = 6$$

$$2^2 = 4 \quad y \quad 6 - 4 = 2$$

$$2^1 = 2 \quad y \quad 2 - 2 = 0$$

TABLA 4-1. Relación entre algunos números decimales y binarios

Número decimal	Representación binaria
0	0
1	1
2	10
3	11
4	100
5	101
6	110
7	111
8	1000
9	1001
10	1010
12	1100
15	1111
16	10000
32	100000
64	1000000

El número binario se obtiene entonces de la siguiente forma:

$$1\ 0\ 1\ 1\ 0\ 0\ 0\ 1\ 1\ 0$$

$$2^9 - 2^7\ 2^6 - - - 2^2\ 2^1 -$$

Hay que destacar que en el sistema de numeración binaria, el dígito binario, o *bit*, que está más a la derecha en el número se denomina *dígito menos significativo*, o *LSB* y el que está más a la izquierda es el *dígito más significativo*, o *MSB*.

4B-3. Cálculo binario

El cálculo con números binarios es similar al cálculo decimal pero más sencillo. Para la suma sólo son posibles cuatro combinaciones:

$$\begin{array}{cccc} 0 & 0 & 1 & 1 \\ +0 & +1 & +0 & +1 \\ \hline 0 & 1 & 1 & 10 \end{array}$$

Obsérvese que en la última suma, se lleva un 1 a la siguiente potencia de 2 por encima. De modo similar, en la multiplicación:

$$\begin{array}{cccc} 0 & 0 & 1 & 1 \\ \times 0 & \times 1 & \times 0 & \times 1 \\ \hline 0 & 0 & 0 & 1 \end{array}$$

El siguiente ejemplo muestra cómo se utilizan estas operaciones.

EJEMPLO 4-3

Realizar los siguientes cálculos en cálculo binario: (a) $7 + 3$, (b) $19 + 6$, (c) 7×3 y (d) 22×5 .

$$\begin{array}{rcl} \text{(a)} & 7 & 111 \\ & +3 & +11 \\ \hline & 10 & 1010 \end{array} \quad \begin{array}{rcl} \text{(b)} & 19 & 10011 \\ & +6 & +110 \\ \hline & 25 & 11001 \end{array}$$

$$\begin{array}{rcl} \text{(c)} & 7 & 111 \\ & \times 3 & +11 \\ \hline & 21 & 111 \\ & & 111 \\ \hline & & 10101 \end{array} \quad \begin{array}{rcl} \text{(d)} & 22 & 10110 \\ & \times 5 & +101 \\ \hline & 110 & 10110 \\ & & 00000 \\ & & 10110 \\ \hline & & 1101110 \end{array}$$

Obsérvese que se realiza una operación de llevar similar a la que se hace en el sistema decimal. Así, en (a) la suma de dos unos en la columna de la derecha es igual a 0 más 1 que se lleva a la siguiente columna. Asimismo, la suma de los tres unos es 1 más 1 para llevar a la siguiente columna. Finalmente, este valor que se ha llevado se combina con el uno de la siguiente columna para dar 0 más 1 como dígito más significativo.

4C. COMPONENTES BÁSICOS DE LOS CIRCUITOS DIGITALES

En la Figura 4-2 se representa el diagrama de bloques de un instrumento que sirve para contar el número de impulsos eléctricos por unidad de tiempo que llegan de un detector. La señal de tensión del detector pasa primero por un convertidor, el cual elimina las pequeñas señales de fondo y transforma los impulsos grandes en impulsos cuadrados de la misma frecuencia que la señal de entrada. La señal resultante se introduce entonces a través de una puerta donde la señal de salida de un reloj interno proporciona un intervalo de tiempo exacto t durante el cual se permite acumular en el contador los

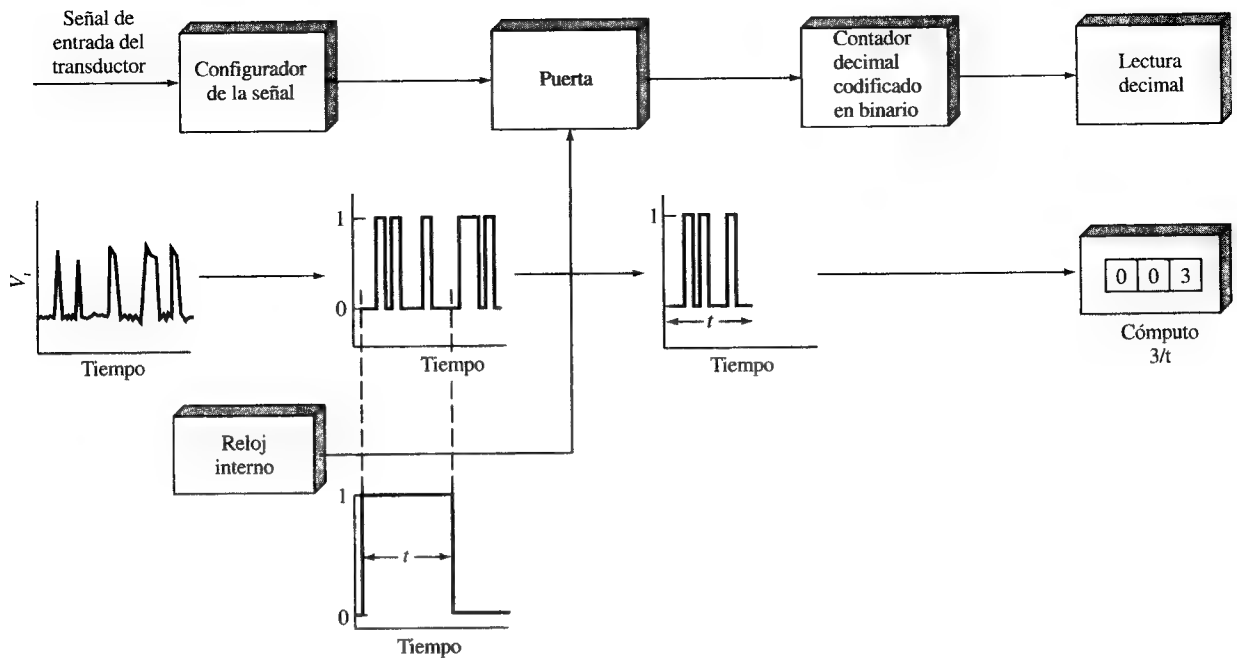


Figura 4-2. Contador para determinar los impulsos de tensión por segundo.

impulsos de entrada. Finalmente, la salida decimal codificada en sistema binario del contador se decodifica y se presenta como un número decimal.

4C-1. Convertidores de señal

La Figura 4-3a muestra el circuito de un convertidor de señal característico. Utiliza un comparador de tensión para convertir la señal de entrada en una onda cuadrada como la que aparece en la Figura 4-3c. Como se vio en la Figura 3-15c, la salida de un comparador se sitúa en uno de los dos niveles de tensión, +5 V o 0 V; estos dos niveles, con frecuencia denominados *estados lógicos*, se han designado como 1 y 0 respectivamente en las Figuras 4-2 y 4-3. Los comparadores comerciales, como el LM311 están diseñados de manera que sus salidas tienen estados de 0 V (LO o 0) o 5 V (HI o 1). Estos niveles lógicos son compatibles con la mayoría de los actuales circuitos integrados digitales. Cuando la tensión de entrada en el comparador v_i es mayor que la tensión de referencia V_{ref} , la señal de salida se sitúa en el estado lógico 1. Por otro lado, cuando v_i es menor que V_{ref} la salida está en el estado lógico 0. Hay que destacar que el comparador sólo responde a las señales mayores que V_{ref} e

ignora la fluctuación de la señal de fondo, siempre que cualquier fluctuación de fondo o ruido en la señal sea suficientemente pequeña como para que la señal permanezca por debajo de V_{ref} .

4C-2. Contadores binarios

Los contadores electrónicos emplean una serie de circuitos binarios para contar impulsos eléctricos. Estos circuitos son básicamente conmutadores electrónicos que tienen únicamente dos estados lógicos posibles, HI y LO o 1 y 0. Cada circuito se puede utilizar para representar un bit de un número binario (o el coeficiente de una potencia de 2). Dos circuitos pueden tener cuatro posibles salidas: 0/0, 0/1, 1/0 y 1/1. Se puede demostrar fácilmente que tres de estos circuitos tienen 8 combinaciones diferentes mientras que cuatro tienen 16. Por tanto, n circuitos binarios tienen 2^n combinaciones de salida diferentes. El número de bits significativo de un cómputo puede ser tan grande como se desee, utilizando un número suficiente de etapas de circuitos. Así pues, siete etapas tienen 128 estados, lo que proporcionaría un cómputo con una exactitud de 1 parte en 128 o algo mejor que el 1 por 100 relativo.

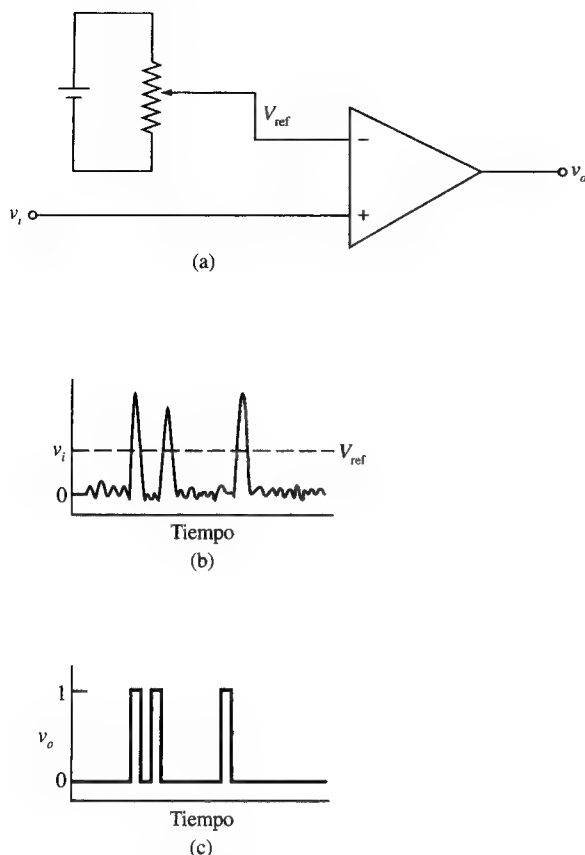


Figura 4-3. Convertidor de señal: (a) circuito, (b) señal de entrada, (c) señal de salida.

Un circuito adecuado para el cómputo es el denominado circuito *basculante JK* (*flip-flop JK*). Este circuito varía su nivel de salida siempre que la señal de entrada cambie de un estado lógico 1 a 0; la señal de salida no cambia cuando la señal de entrada varía de 0 a 1. Los flip-flops son circuitos integrados contruidos a partir de la combinación adecuada de diodos, resistencias y transistores.

La Figura 4-4 muestra cómo pueden disponerse cuatro flip-flops para formar un contador de 0 a 15. Añadiendo flip-flops se podrá ampliar el intervalo a números mayores. Así pues, cinco flip-flops proporcionarán un intervalo de 0 a 31 y seis un intervalo de 0 a 63. La Figura 4-5 muestra la forma de las ondas de las señales tal como llegan a los flip-flops A, B, C y D en el contador que se puede ver en la Figura 4-4. Como se aprecia por la forma de la onda superior de la Figura 4-5, la señal de entrada *I* consiste en una serie de impulsos de tensión de igual magnitud y frecuencia, que inicialmente son transformadas por el comparador en la onda cua-

drada indicada como señal *S*. La señal *G* de puerta inicia el cómputo como impulso 1 cuando la salida del comparador varía de 1 a 0. Al final, la señal de puerta termina el cómputo tras un tiempo *t* predefinido que corresponde a una cuenta de 12, tal como se ve en la figura.

Antes de que se inicie el cómputo, todos los flip-flops son reiniciados; esto es, se colocan en su estado 0. En esta situación, todos los diodos emisores de luz, o LED, de la Figura 4-4 están apagados. En el momento de inicio del cómputo, el flip-flop A pasa de 0 a 1 como consecuencia de un cambio de 1 a 0 en la señal del comparador (véase la primera línea de puntos vertical, Fig. 4-5). En este momento el LED A se enciende y permanece encendido hasta que de nuevo la señal *S* varíe de 1 a 0 (véase la segunda línea vertical). Esta conmutación de encendido y apagado del LED A continúa hasta que se cumple el tiempo t_2 ; obsérvese que el LED A está apagado en este momento.

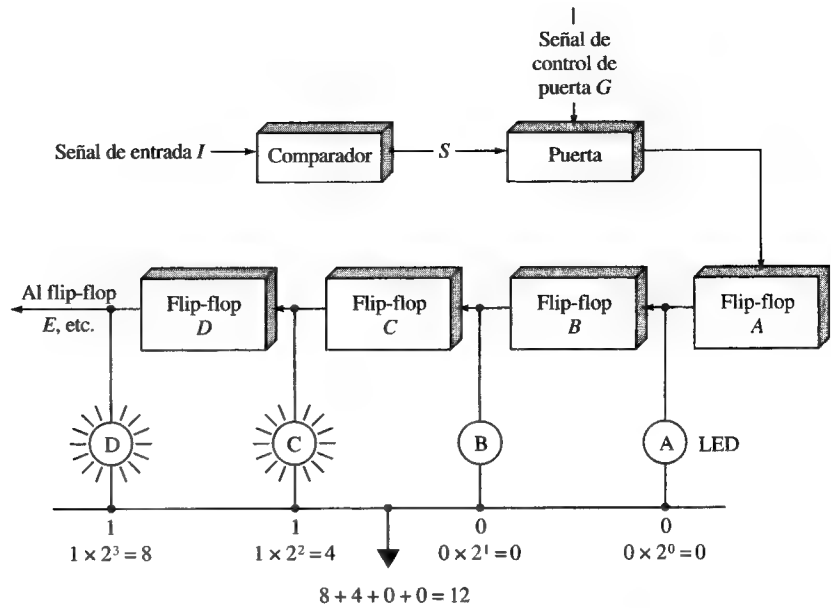
Como puede apreciarse en la Figura 4-5, la salida del flip-flop A también es una onda cuadrada con una frecuencia que es exactamente la mitad de la señal de entrada *S*. A partir de la figura, se deduce que la respuesta del flip-flop B a la señal del flip-flop A es análoga a la respuesta de A a la señal *S*. De esta forma, B es una onda cuadrada con una frecuencia de exactamente la mitad de A y de la cuarta parte de *S*. De forma similar, la salida del binario C tiene una frecuencia de un octavo de la de *S*, mientras que la frecuencia de la señal D es un dieciséisavo de la de *S*. Esta función se utiliza a veces para el escalado de la frecuencia de la señal por una fracción dada, como se describe en el Apartado 4C-4.

Al cabo del tiempo t_2 , se observa que los flip-flops C y D acaban en el estado lógico 1, mientras que A y B lo hacen en el 0. Estos estados corresponden al número binario 1100, que corresponde en el sistema decimal al 12. La Figura 4-4 muestra también cómo el cálculo binario podría realizarse directamente por medio de un grupo de LED.

4C-3. Cómputo decimal

En la mayoría de los contadores, la visualización no se realiza en la forma binaria mostrada por los LED de la Figura 4-4 sino en un formato decimal más adecuado y más fácil de comprender. Se han desarrollado varios sistemas para la conversión de binario en decimal. El sistema más utilizado es el

Figura 4-4. Contador binario para números del 0 al 15. El cómputo mostrado es el binario 1100 o el decimal 12.



denominado sistema 8421 o *sistema decimal codificado en binario (BCD)*. En este caso, cada dígito de un número decimal se representa por un conjunto de cuatro flip-flops como el indicado en la Figura 4-4. Sólo se utilizan, por tanto, 10 de los 16 estados posibles. El sistema se dispone de forma que

después de contar nueve, la señal de salida de todos los flip-flops vuelve a 0 con la transición de 1 a 0 del binario D que está alimentando al flip-flop A de la siguiente serie de cuatro flip-flops. La serie, a menudo, se denomina *unidad de cómputo en décadas (DCU)* dado que una serie de cuatro binarios se

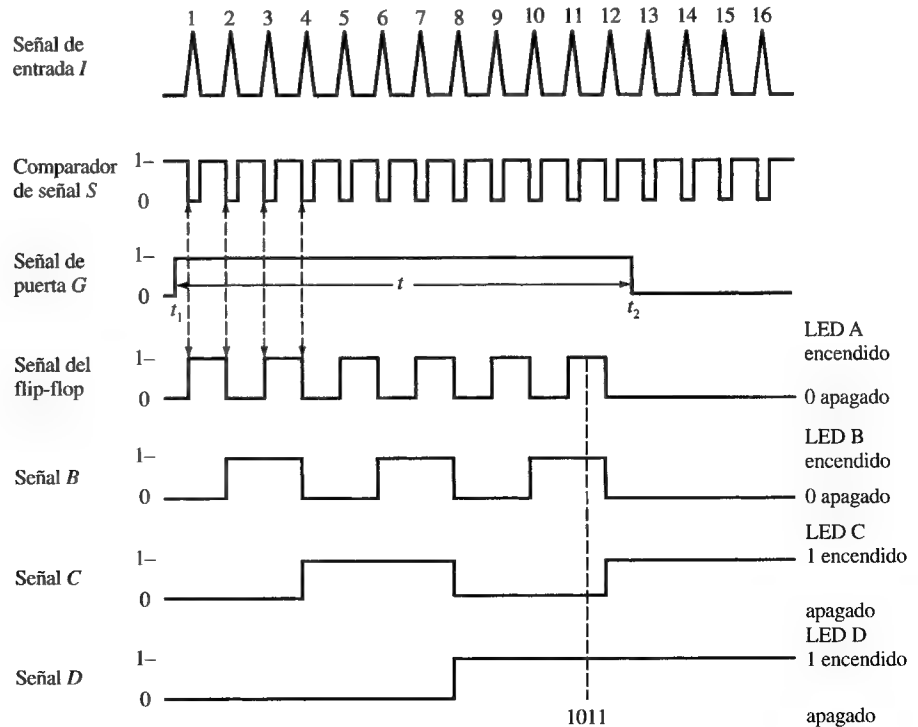


Figura 4-5. Formas de onda para las señales en varios puntos del contador mostrado en la Figura 4-4. En este caso el cómputo durante el período t es el binario 1011 o el decimal 11.

usa para una década en sistema decimal. La Figura 4-6 muestra cómo cuatro unidades de cómputo en décadas pueden dar lugar a un número decimal con cuatro cifras significativas (6395).

4C-4. Escaladores

Del estudio de la Figura 4-5 se desprende que el flip-flop *D* produce un impulso de salida por cada 16 impulsos de entrada. Por tanto, el número de impulsos se puede reducir a una fracción conocida si se colocan en cascada varios flip-flops. También se pueden colocar en cascada las unidades de cómputo en décadas. En este caso, cada unidad reduce el número de cuentas por un factor de 10. El proceso de reducción de una cuenta a una fracción conocida se denomina escalado y adquiere importancia cuando la frecuencia de una señal es mayor que la que puede acomodar un dispositivo de cómputo. En este caso se coloca un escalador entre la fuente de la señal y el contador.

4C-5. Relojes

Muchas aplicaciones digitales precisan de una fuente de frecuencia muy reproducible y exacta para su utilización en la medida del tiempo. En general, las fuentes electrónicas de frecuencia utilizan cristales de cuarzo que manifiestan un *efecto piezoeléctrico* como el descrito en el Apartado 1C-4. La frecuencia de resonancia de un cristal de cuarzo depende de la masa y de las dimensiones

del cristal. Variando estos parámetros se pueden obtener salidas eléctricas con un intervalo de frecuencias entre los 10 kHz y los 50 MHz o incluso mayores. Normalmente, estas frecuencias se mantienen constantes a 100 ppm. Se pueden construir osciladores de cristal para patrones de tiempo con una precisión de 1 parte por 10 millones tomando precauciones especiales, como es un control preciso de la temperatura.

El uso de una serie de escaladores de década con un oscilador de cuarzo proporciona un reloj preciso cuya frecuencia puede variarse en intervalos del orden de 0,1 Hz a 10 MHz.

4C-6. Convertidores digital-analógicos (DAC)

Las señales digitales a menudo se convierten en sus homólogas analógicas tanto para el control de instrumentos como para la visualización por medio de dispositivos de lectura tales como medidores o registradores analógicos. La Figura 4-7 ilustra el principio de una de las formas básicas de lograr esta conversión, la cual se basa en una *red de escala de resistencias ponderadas*. Obsérvese que el circuito es similar al circuito suma de la Figura 3-13b, con cuatro resistencias ponderadas en la proporción 8:4:2:1. A partir del estudio de los circuitos suma se puede demostrar que la salida v_{DAC} viene dada por

$$v_{DAC} = -V_{ref} \left(\frac{D}{1} + \frac{C}{2} + \frac{B}{4} + \frac{A}{8} \right) \quad (4-1)$$

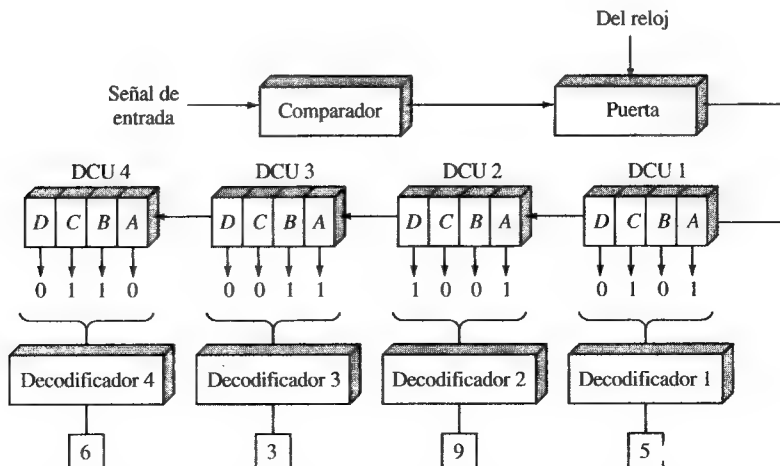


Figura 4-6. Contador decimal codificado en binario de cuatro unidades de cómputo de décadas, DCU.

en la que V_{ref} es la tensión asociada con el estado lógico 1 y D , C , B y A corresponden a los estados lógicos (0 o 1) para un número binario de 4 bits en el que A es el dígito menos significativo y D el más significativo. La Tabla 4-2 muestra la salida analógica de la red de resistencias escalonadas ponderadas de la Figura 4-7 cuando V es de 5 V.

La resolución de un convertidor digital-analógico depende del número de bits de entrada que el dispositivo sea capaz de manejar. Un dispositivo de n bits tiene una resolución de una parte en 2^n . Así, un DAC de 10 bits tiene 2^{10} o 1.024 tensiones de salida y, por tanto, una resolución de 1 parte en 1.024, mientras que un DAC de 12 bits tiene una resolución de 4.096. Obsérvese que en el estudio de los DAC y de los ADC se ha utilizado el símbolo n para representar el número de bits de resolución del dispositivo, mientras que N simboliza la salida digital.

4C-7. Convertidores analógico-digitales (ADC)

La señal de salida de la mayoría de los detectores usados en los instrumentos analíticos es una señal analógica. Para aprovechar las ventajas de la electrónica digital y el procesamiento de datos por ordenador, es necesario transformar la señal analógica desde el dominio analógico hasta el dominio digital. La Figura 4-1 muestra el proceso de digitalización. Existen numerosos métodos para realizar este tipo de transformación. Se estudian aquí dos tipos comunes de ADC: el ADC en escalera y el ADC de aproximación sucesiva.

Convertidor analógico-digital en escalera

La Figura 4-8 representa un esquema simplificado de un dispositivo que convierte una tensión analó-

TABLA 4-2. Salida analógica del convertidor digital-analógico de la Figura 4-7

Número binario DCBA	Decimal equivalente	V_a^*
0000	0	0 V
0001	1	-1,0 V
0010	2	-2,0 V
0011	3	-3,0 V
0100	4	-4,0 V
0101	5	-5,0 V

* En este caso, el estado lógico 1 corresponde a +5 V.

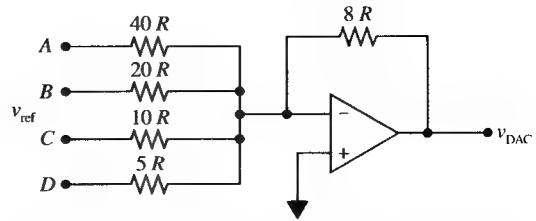


Figura 4-7. Convertidor digital-analógico de 4 bits. Aquí, A , B , C y D son +5 V para el estado lógico 1 y 0 V para el estado lógico 0.

gica desconocida V_i en un número digital N . En este caso, se usa un contador binario de n bits controlado por una señal de un reloj de cuarzo para dirigir un DAC de n bits similar al descrito en el apartado anterior. La salida del DAC es la tensión de salida en escalera v_{DAC} que se muestra en la parte inferior de la figura. Cada peldaño de la señal corresponde a un incremento de tensión dado, por ejemplo 1 mV. La salida del DAC se compara con la entrada V_i desconocida por medio del comparador. Cuando las dos tensiones se hacen iguales, dentro del intervalo de resolución del DAC, el comparador pasa del estado lógico 1 al 0 deteniéndose al mismo tiempo el contador. El cómputo N corresponde entonces a la tensión de entrada en milivoltios. Al cerrar el conmutador reiniciador, el contador se coloca de nuevo a cero listo para la conversión de una nueva tensión, la cual se inicia nuevamente al abrir el conmutador reiniciador. La tensión de entrada V_i debe mantenerse constante durante el proceso de conversión para asegurar que la salida digital se corresponde con la tensión que se desea convertir.

Cuanto mayor sea la resolución del DAC, mayor será la precisión con la que representa el número a v_i . Este tipo de convertidor muestra claramente el proceso de medida. El DAC actúa como patrón de referencia que se compara con v_i por el detector de diferencia (el comparador). El tiempo de conversión es $t_c = Nt_p$, donde N es la salida del contador, que varía con v_i . Este tiempo de conversión resulta ventajoso si se sabe que v_i tiene un valor relativamente bajo durante la mayor parte del tiempo. Si durante la mayor parte del tiempo el valor de v_i es grande, t_c será proporcionalmente grande. Este tipo de DAC se utiliza usualmente en espectroscopia nuclear y campos relacionados en donde se producen señales de fondo de baja intensidad. Cuando se utilizan contadores de alta velocidad, DAC y comparadores, la frecuencia del oscilador puede llegar hasta los 100 MHz.

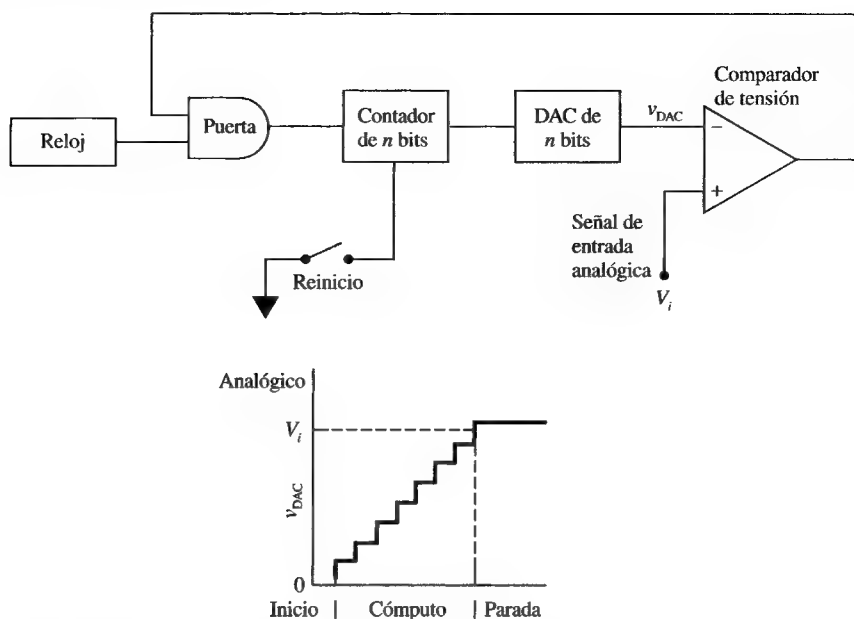


Figura 4-8. Convertidor analógico-digital en escalera (ADC).

La operación de ACD en escalera se puede hacer continua reemplazando el contador simple por un contador de arriba/abajo (*up/down*) controlado por el comparador. Si v_i aumenta, la salida del comparador cambia al estado lógico 1 y el contador cuenta hacia arriba; si v_i disminuye, el contador cuenta hacia abajo. Cuando la salida del DAC sobrepasa v_i , el contador alterna entre N y $N - 1$, en un intervalo que se encuentra entre $\pm \frac{1}{2} \text{LSB}$ (dígito menos significativo) de v_i . Este tipo de ADC trabaja correctamente cuando v_i varía lentamente comparado con el tiempo de conversión o cuando es importante obtener una lectura de salida continua.

Convertidor analógico-digital por aproximación sucesiva

Para entender cómo funciona un ACD por aproximación sucesiva, se plantea la siguiente pregunta: ¿cuál es el número mínimo de pasos necesarios para determinar, *con certeza*, un número N comprendido entre 0 y 15? Considérese que después de cada predicción se sabe si el número considerado es mayor o menor que el número a determinar. La respuesta es que no necesita más de cuatro predicciones. Como ejemplo, supóngase que el número a determinar es el 10. En primer lugar se divide el intervalo en el que el número está comprendido por la mitad, de manera que la primera predicción es el

número 7. El número 7 es menor que 10, por lo que se divide de nuevo entre dos la mitad superior del intervalo y se suma a 7 para obtener la segunda predicción, $N = 7 + 4 = 11$. Este número es demasiado grande, por lo que el 4 se omite y la mitad de 4 se añade a 7 para obtener $N = 9$, el cual es bajo. Finalmente, la mitad de 2 se añade a 9 para obtener el número que queríamos determinar $N = 10$. La aproximación por pasos al valor final se muestra en el gráfico de la Figura 4-9a. Las reglas para las sucesivas aproximaciones son las siguientes:

1. Comenzar con una predicción de la mitad del intervalo total.
2. Si resulta demasiado grande, desestimar la predicción.
3. Si resulta demasiado pequeño, conservar la predicción.
4. Añadir la mitad del incremento anterior.
5. Repetir los pasos del 2 al 4 hasta la conclusión.

Obsérvese que para determinar un número dentro de un intervalo desde 0 hasta $2^n - 1$, son necesarias n predicciones. Por ejemplo, para determinar con certeza un número entre 0 y 4.095 se requieren 12 predicciones.

El ACD por aproximación sucesiva utiliza exactamente la misma lógica para llegar a un binario o a un número BCD para representar una tensión desconocida V_i , como se describe en la Figura 4-9b. En

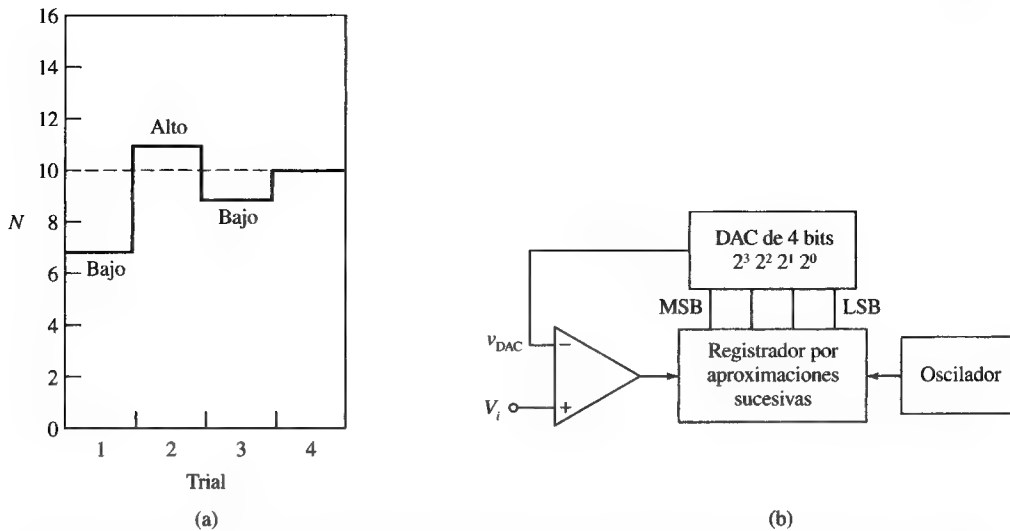


Figura 4-9. ADC por aproximación sucesiva: (a) salida del DAC durante el proceso de conversión, (b) diagrama de bloques del ADC.

este caso, el DAC de 4 bits de la Figura 4-7 se utiliza para mostrar cómo se puede llevar a cabo el proceso de aproximaciones sucesivas. Supóngase que $V_i = 5,1$ V y que todos los bits se reinician a 0. El primer ciclo del oscilador fija el $MSB = 2^3$ en 1, lo que provoca que la tensión del DAC, v_{DAC} cambie a 8 V. Como $v_{DAC} > V_i$, el registrador por aproximaciones sucesivas (SAR) reinicia el bit 2^3 . El siguiente ciclo del oscilador provoca que el bit 2^2 se disponga para dar $v_{DAC} = 4$ V $< V_i$, lo que provoca que la salida del comparador cambie al estado lógico 1. El SAR dispone entonces el bit $2^2 = 1$, antes de proceder al siguiente ciclo, que dispone el bit $2^1 = 1$, resultando en $v_{DAC} = 6$ V $> V_i$. La salida del comparador cambia a 0, y por tanto el SAR reinicia el bit 2^1 . Finalmente, el SAR dispone $2^0 = 1$. El número binario resultante, 0101, representa la tensión de entrada 5 V $\pm 0,5$ V. Obsérvese que la resolución es $\pm \frac{1}{2}LSB$, que, en este caso, es $\pm 0,5$ V.

Para aumentar la resolución del ADC, es necesario un DAC de la resolución requerida y el SAR debe tener el correspondiente mayor número de bits. Los más utilizados son los ACD de doce bits con intervalos de entrada de ± 5 V, ± 10 V o de 0 a 10 V. Estos convertidores tienen un tiempo de conversión fijo, normalmente de 2 a 8 μ s para 12 bits. Los convertidores por aproximaciones sucesivas de este tipo son muy utilizados para la obtención de datos temporizados y computerizados. Dado que es importante que la tensión que se desea medir no varíe durante el proceso de conversión, casi siempre se

utiliza un amplificador rápido de muestreo y retención para muestrear la señal de interés antes de pasarla por el ACD por aproximaciones sucesivas.

4D. MICROPROCESADORES Y MICROORDENADORES

Un microprocesador es un circuito integrado a gran escala compuesto por cientos de miles o incluso millones de transistores, resistencias, diodos y otros elementos miniaturizados de circuitos que se colocan en un único chip de silicio del tamaño de unos pocos milímetros. Un microprocesador se suele utilizar como componente aritmético y lógico, denominado *unidad central de procesamiento* (CPU), de un microordenador. Los microprocesadores son también muy utilizados en el control del funcionamiento de sistemas tan diferentes como instrumentos analíticos, sistemas de ignición de automóviles, hornos microondas, cajas registradoras y juegos electrónicos.

Los microordenadores constan de uno o varios microprocesadores combinados con otros componentes de circuitos que dan lugar a la memoria, control del tiempo y control de las funciones de entrada y salida. Los microordenadores se usan cada vez más para el control de los instrumentos analíticos y para el procesamiento, almacenamiento y visualización de los datos obtenidos de los mismos. Existen al menos dos razones para conectar un or-

denador a un instrumento analítico. La primera es que se puede lograr una automatización parcial o completa de las medidas. Por lo general, la automatización conduce a una adquisición de datos más rápida, lo que acorta el tiempo necesario para un análisis y aumenta la precisión proporcionando tiempo para realizar medidas repetidas adicionales. Además, la automatización suele proporcionar un mejor y más rápido control de las variables experimentales que el que puede lograrse con la intervención humana; el resultado es datos más precisos y exactos.

La segunda razón para acoplar ordenadores a los instrumentos es aprovechar su enorme capacidad de cálculo y de tratamiento de datos. Esta capacidad posibilita el uso rutinario de técnicas que de otra forma no sería práctico utilizar por el excesivo tiempo de cálculo que se necesitaría. De entre tales aplicaciones, las más notables son el uso de cálculos por la transformada de Fourier, el promediado de señales y las técnicas de correlación en espectroscopia para aislar señales analíticas pequeñas de entornos con ruido.

El acoplamiento de estos dispositivos a instrumentos es un tema demasiado amplio y complejo para ser tratado con detalle en este libro. Así pues, este capítulo se limita a un resumen general de la terminología de los ordenadores, a la arquitectura y las propiedades de los microprocesadores y de los microordenadores, así como al estudio de algunos paquetes de software muy útiles en aplicaciones instrumentales y a las ventajas que se obtiene por el empleo de estos dispositivos.

4D-1. Terminología de los ordenadores

Uno de los problemas a los que debe hacer frente el neófito en el campo de los ordenadores y de sus aplicaciones es la enorme serie de nuevos términos y acrónimos tales como CPU, ALU, PROM y SSIC. Lamentablemente, a menudo, ni siquiera se definen en las introducciones más elementales. Algunos de los términos y abreviaturas más importantes se definen aquí; otros se irán definiendo a medida que aparezcan a lo largo de este capítulo. Se puede encontrar una relación de los acrónimos más frecuentes en el Apéndice 5.

Bits, bytes y palabras

En un ordenador, los bits se representan por dos estados eléctricos que difieren entre sí normalmen-

te de 2 a 5 V. Una combinación de ocho bits se denomina un *byte* u *octeto*. Una serie de bytes ordenados secuencialmente para representar una parte de los datos o una instrucción se denomina una *palabra*. El número de bits (o bytes) por palabra depende del ordenador; algunos tamaños comunes son de 8, 16, 32 y 64 bits, o de 1, 2, 4 y 8 bytes.

Registros

El componente fundamental de los ordenadores digitales es el *registro*, un dispositivo físico que puede almacenar un byte completo o una palabra. Un contador binario de 16 bits, por ejemplo, puede servir como un registro capaz de almacenar una palabra de 16 bits.

Un dato contenido en un registro se puede tratar de formas diferentes. Por ejemplo, un registro puede *borrarse*, un proceso en el que el registro se sitúa para todos a cero; se puede obtener el *complementario* de un registro, esto es, cada 1 cambia a 0, y cada 0 cambia a 1. Se puede transferir el contenido de un registro a otro. El contenido de un registro también puede sumarse, restarse, multiplicarse o dividirse por el contenido de otro. El registro en el que se realizan estas operaciones se llama *acumulador*. Se ha demostrado que con independencia del grado de complejidad, una secuencia adecuada de operaciones del registro puede resolver cualquier problema de procesamiento computacional o informativo, siempre que exista un *algoritmo* para la solución. Un algoritmo consiste en una exposición detallada de los pasos individuales necesarios para llegar a una solución. Uno o varios algoritmos constituyen un *programa de ordenador*.

Hardware y software

El *hardware* de un ordenador es el conjunto de dispositivos físicos que conforman un ordenador. Ejemplos de hardware son las disqueteras, las impresoras, los relojes, las unidades de memoria, los módulos de adquisición de datos y las unidades aritmético-lógicas. La colección de programas e instrucciones del ordenador, incluyendo las cintas o discos para su almacenamiento constituye el *software*. El hardware y el software son de igual importancia para una utilización correcta del ordenador, y el coste inicial del software puede ser tan elevado como el del ordenador en sí. Esto sucede especialmente en paquetes de software sofisticados diseñados para usos especiales como puede ser el tratamiento de datos, el ajuste de curvas o el análisis.

sis estadístico. En estos últimos años, el gran incremento en la disponibilidad de microordenadores personales rápidos, de gran capacidad y bajo coste, ha derivado en la correspondiente demanda de paquetes de software útiles y fáciles de manejar. La producción y la venta de cientos de millones de ordenadores en todo el mundo garantiza la disponibilidad de una amplia variedad de software a un coste razonable. Este mercado ha provocado una bajada del coste del software incluso para aplicaciones científicas especiales, como se verá en el apartado siguiente

4D-2. Modalidades operacionales en los instrumentos computarizados

La Figura 4-10 sugiere tres maneras de utilizar conjuntamente los ordenadores con medidas analíticas. En el método *fuera de línea* (*off-line*) que se muestra en la Figura 4-10a, un operador humano recoge los datos y los transfiere a continuación al ordenador para su procesamiento. El método *en línea* (*on-line*) de la Figura 4-10b difiere del procedimiento anterior en que es posible establecer comunicación directa entre el instrumento y el ordenador mediante una *interfaz* electrónica donde la señal procedente del instrumento es convertida, digitalizada y almacenada. En este caso, el ordenador es una entidad diferenciada con una capacidad de almacenamiento masivo de datos e instrucciones para el procesamiento de estos datos; con esta configuración también se puede operar fuera de línea.

La mayor parte de los instrumentos modernos se configuran como se indica en la Figura 4-10c. En esta disposición *dentro de línea* (*in-line*), un ordenador o un microprocesador se integra en el instrumento. En este caso, el operador se comunica con el instrumento y dirige su funcionamiento a través del ordenador. Sin embargo, el operador no tiene necesidad de programarlo, aunque tiene con frecuencia la opción de hacerlo. El software de seguimiento básico normalmente se suministra con el instrumento comercial con su propio lenguaje de programación, de manera que el usuario pueda programar modalidades opcionales para la adquisición de datos y para su tratamiento.

Con frecuencia, en las operaciones dentro de línea y en línea, los datos se transfieren en *tiempo real* al ordenador, esto es, a medida que los genera

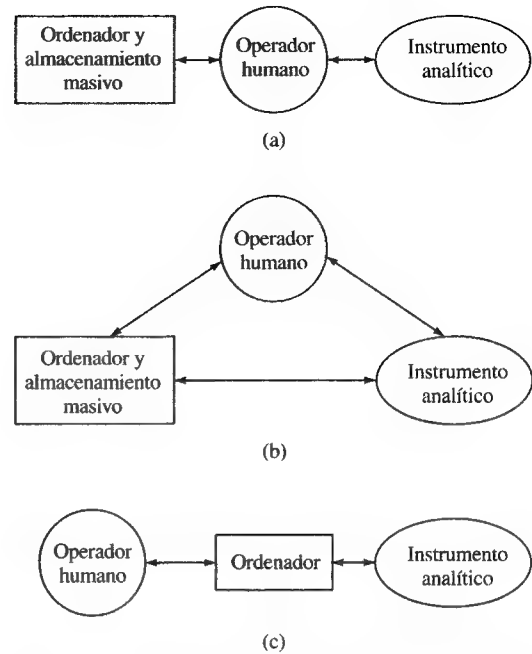


Figura 4-10. Tres métodos para la utilización de ordenadores para medidas analíticas: (a) fuera de línea; (b) en línea; (c) dentro de línea.

el instrumento. La velocidad a la que un instrumento genera datos suele ser relativamente lenta, de modo que sólo una pequeña fracción de tiempo del ordenador se emplea en la adquisición de datos; en estas condiciones, el período entre cada una de las recogidas de los datos se pueden aprovechar para procesar la información de diversas formas. Por ejemplo, el tratamiento de los datos se puede concretar en la realización del cálculo de una concentración, el suavizado de una curva, la combinación de los datos con otros recogidos previamente y almacenados para su posterior promediado y el registro o la impresión del resultado. El *proceso en tiempo real* de los datos supone realizar dicho tratamiento simultáneamente con la adquisición de los mismos. El procesamiento en tiempo real presenta dos ventajas. En primer lugar, puede reducir de forma significativa el espacio necesario para almacenar los datos, haciendo así posible la utilización de un ordenador menos sofisticado y caro. En segundo lugar, si entre los muestreos hay un intervalo de tiempo suficientemente grande, la señal tratada puede usarse para ajustar parámetros del instrumento que mejoren la calidad de las siguientes señales de salida. Como la velocidad y la capacidad de almacenamiento de los ordenadores ha

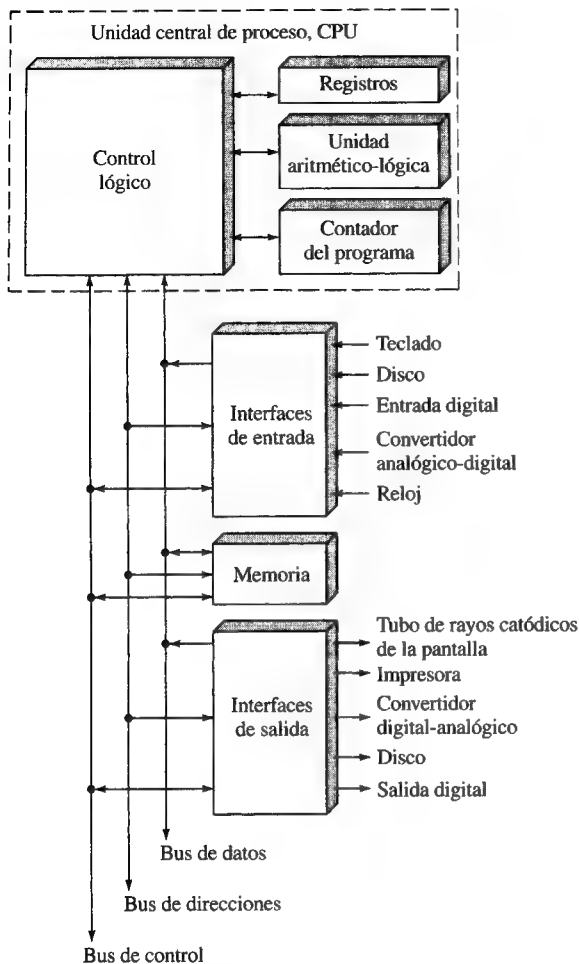


Figura 4-11. Componentes básicos del ordenador digital, incluyendo los dispositivos periféricos.

aumentado, también lo ha hecho la capacidad del proceso en tiempo real.

Un ejemplo de sistema de proceso en tiempo real es un instrumento controlado por un microprocesador que permite realizar valoraciones potenciométricas de manera automática. Tales instrumentos suelen tener la capacidad de almacenamiento necesaria para guardar la forma digitalizada de la curva del potencial frente al volumen de reactivo, así como cualquier otra información que pudiera ser necesaria para generar un informe sobre la valoración. También es frecuente que dichos instrumentos calculen en tiempo real la primera derivada del potencial frente al volumen, y utilicen esta información para controlar la velocidad a la que se añade el valorante mediante una jeringa movida por un motor. Al principio de la valoración, cuando la va-

riación del potencial es pequeña, la derivada también lo es, por lo que el valorante se añade rápidamente. Cuando se aproxima el punto de equivalencia, la derivada aumenta y el ordenador disminuye la velocidad de adición de valorante. El proceso inverso se produce cuando se sobrepasa el punto de equivalencia.

4E. COMPONENTES DE UN ORDENADOR

La Figura 4-11 representa un diagrama de bloques en el que se indican los componentes principales del hardware de un ordenador y de sus dispositivos periféricos.

4E-1. Unidad central de proceso (CPU)

El corazón de un ordenador es la unidad central de proceso, que en el caso de un microordenador es un chip microprocesador. Un microprocesador consta de una unidad de control y de una unidad aritmético-lógica. La unidad de control determina la secuencia de operaciones mediante las instrucciones del programa almacenado en la memoria del ordenador. La unidad de control recibe información del dispositivo de entrada, toma instrucciones y datos de la memoria y transmite instrucciones a la unidad aritmético-lógica, a los dispositivos de salida y también a la memoria.

La unidad aritmético-lógica ALU de una CPU consta de una serie de registros o acumuladores en los que se acumulan los resultados intermedios del cálculo binario aritmético y lógico. En el momento en el que este capítulo se escribió, un microprocesador de última generación disponía de tres a cinco millones de transistores y era capaz de ejecutar de 100 a 300 millones de instrucciones por segundo.

4E-2. Buses

Las distintas partes de un ordenador, su memoria y los dispositivos periféricos se enlazan a través de *buses*, cada uno de los cuales consta de un cierto número de líneas de transmisión. Para establecer una comunicación rápida entre las diversas partes de un ordenador, todas las señales digitales que constituyen una palabra se suelen transmitir de forma simultánea por las líneas paralelas del bus. El

número de líneas de los buses internos de la CPU equivale, por tanto, al tamaño de la palabra procesada por el ordenador. Por ejemplo, el bus interno para una CPU de 16 bits necesitará 16 líneas paralelas de transmisión, cada una de las cuales transmite uno de los 16 bits.

Los datos son transportados hacia dentro y hacia fuera de la CPU mediante un bus de datos como se representa en la Figura 4-11. Tanto el origen como el destino de las señales en el bus de datos se especifican por medio del bus de dirección. Un bus de dirección con 32 líneas puede dirigir directamente 2^{32} o 4.294.967.296 registros u otras posiciones situados dentro del ordenador o 4 gigabytes de memoria. El bus de control es el responsable del control y estado de la información hacia y desde la CPU. Estas transferencias se secuencian mediante señales de tiempo transportadas por el bus.

Los datos también deben transmitirse entre los componentes del instrumento o los dispositivos periféricos y la CPU; para este tipo de transferencia de datos se utiliza un bus externo o línea de comunicación. La Tabla 4-3 resume algunas de las características de tres comunicaciones externas estándar muy utilizadas.

4E-3. Memoria

En un microordenador, la memoria es un área de almacenamiento a la que accede directamente la CPU. Dado que la memoria contiene, tanto información de datos como de programas, la CPU debe acceder a la memoria, al menos una vez por cada instrucción del programa. El tiempo necesario para recuperar una parte de la información de la memoria del ordenador se denomina *tiempo de acceso*; los tiempos de acceso son, por lo general, del orden de decenas de nanosegundos.

Chips de memoria

La unidad básica de un chip de memoria es una celda, la cual es capaz de existir en uno de los dos estados y, por tanto, es capaz de almacenar un bit de información. Normalmente, un solo chip de memoria de silicio contiene hasta varios billones de estas celdas. La Figura 4-12 ilustra las funciones relacionadas con una celda individual de memoria. Con la instrucción LEER de la CPU, el estado lógico (1 o 0) se sitúa en uno de los dos posibles estados a la salida. Una instrucción ESCRIBIR permite sustituir el estado de la celda por el estado 1 o 0 de la terminal de entrada y almacenar el nuevo estado en su lugar.

Las celdas individuales están dispuestas en filas y columnas en los chips de memoria, los cuales a su vez se montan en las placas base de circuitos impresos que se conectan directamente a la carcasa del ordenador. Los ordenadores personales suelen tener del orden de 8 a 32 megabytes (Mbyte) de memoria, pero también existen diversas configuraciones diferentes. Puesto que el proceso de direccionamiento y almacenamiento de información en la memoria ya se establece durante la fabricación o lo controla la CPU, la mayoría de los químicos no necesitan conocer en profundidad el diseño de las memorias. Sin embargo, es útil tener algunos conocimientos de la terminología utilizada en la descripción de memorias a la hora de seleccionar la cantidad de memoria adecuada para que el ordenador realice una determinada tarea.

Tipos de memoria

La mayoría de los microordenadores disponen de dos tipos de memoria: la *memoria de acceso aleatorio* (RAM) y *memoria sólo de lectura* (ROM). El término *acceso aleatorio* es algo confuso, ya que a las ROM también se accede aleatoriamente. El tér-

TABLA 4-3. Comparación de las especificaciones para tres buses de comunicación estándar

	RS-232	IEEE-488	Ethernet
Configuración	en serie	en paralelo	en serie
Distancia (m)	30	20	2.500
Baudio* máximos	19,2 K	10 M	10 M
Tipo de cable	par enroscado	haz protegido	coaxial

* El baudio es una medida de la velocidad a la que puede transmitirse la información. Las unidades de velocidad del baudio son bits por segundo.

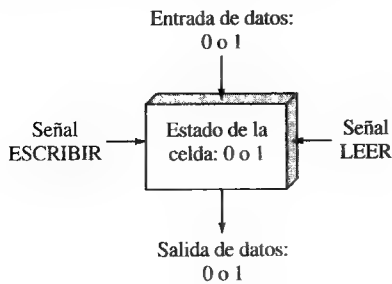


Figura 4-12. Celda individual de memoria de un ordenador para el almacenamiento de un bit.

mino acceso aleatorio significa que todas las posiciones de la memoria son accesibles por igual y pueden alcanzarse aproximadamente a la misma velocidad. Así pues, un término más descriptivo para RAM es el de *memoria de lectura/escritura*. Los primeros tipos de RAM de semiconductor eran *volátiles*; esto es, la información no se guardaba a menos que la memoria se refrescara regularmente. Hoy en día, muchas placas RAM tienen baterías de seguridad o apoyo que actúan como fuentes de alimentación, que pueden evitar la pérdida de cualquier información si el suministro eléctrico se interrumpe durante ocho horas o más. Esta clase de memoria es similar a la de las calculadoras de bolsillo que guardan datos e instrucciones incluso cuando se desconectan.

Las memorias sólo de lectura disponen de instrucciones permanentes y datos que se colocaron en el momento de su fabricación. Estas memorias son verdaderamente estáticas en el sentido de que mantienen sus estados originales durante el tiempo de vida del ordenador o de la calculadora. El contenido de una ROM no se puede cambiar reprogramándola. Una variante de ROM es la *memoria sólo de lectura borrrable* (EPROM o PROM borrrable), en la que el programa que contiene puede borrarse exponiéndolo a la radiación ultravioleta. Después de este tratamiento, la memoria puede reprogramarse por medio de un equipo especial. También existen ROM que se pueden reprogramar de manera más sencilla mediante señales lógicas. Se denominan EAROM (ROM modificables eléctricamente). Los programas de autoevaluación que reinician el sistema de un ordenador cuando se enciende, se almacenan normalmente en un tipo de ROM. La información del sistema se debe almacenar en el momento del apagado para su reprogramación cuando se instalen nuevos dispositivos en el ordenador; estos datos se almacenan normalmente en la RAM alimentada mediante una batería.

En microordenadores y en sistemas de calculadoras manuales, se usan dispositivos ROM para almacenar los programas necesarios para realizar distintas operaciones matemáticas, tales como obtención de funciones logarítmicas, exponenciales y trigonométricas; realización de cálculos estadísticos como medias, desviaciones típicas y mínimos cuadrados; y presentación de datos mediante notaciones de punto fijo, científicas o de ingeniería.

Dispositivos de almacenamiento masivo

Además de las memorias semiconductoras, los ordenadores suelen estar equipados con dispositivos de almacenamiento masivo. Durante años las cintas magnéticas fueron el sistema principal de almacenamiento masivo, pero han sido sustituidas, en gran parte, por disquetes y por discos duros. Las cintas se utilizan ahora, sobre todo, como copias de seguridad de discos duros. Las capacidades de almacenamiento en disco aumentan constantemente; según el tipo de disquete usado, las capacidades más comunes van de 1,4 Mbytes hasta los 100 Mbytes. Ahora se puede disponer de discos duros reemplazables de varios cientos de Mbytes de capacidad y de discos flexibles rápidos de 100 Mbytes denominados ZIP® a precios razonables. Los discos duros más pequeñas tienen capacidades del orden de 300 hasta 500 Mbyte, pero existen discos duros que pueden almacenar varios gigabytes. El tiempo necesario para alcanzar en el disco una posición seleccionada al azar se denomina *tiempo de acceso*, y para la mayor parte de los discos duros es del orden de 10 a 30 ms. El CD-ROM es un dispositivo de almacenamiento especialmente adecuado para bases de datos grandes, enciclopedias y otros datos de referencia dada su gran capacidad de almacenamiento, de aproximadamente 750 Mbytes. Actualmente las unidades de disco capaces de escribir en un CD-ROM son relativamente caras; pero a medida que mejore la tecnología, se espera que se disponga de unidades de disco de CD-ROM o de otros dispositivos similares de alta capacidad en los que se puedan leer y escribir datos, a precios razonables.

4E-4. Sistemas de entrada/salida

Los dispositivos de entrada/salida permiten que el usuario o su instrumento se comuniquen con el ordenador. Entre los dispositivos habituales de entrada se incluyen teclados, cintas magnéticas o discos,

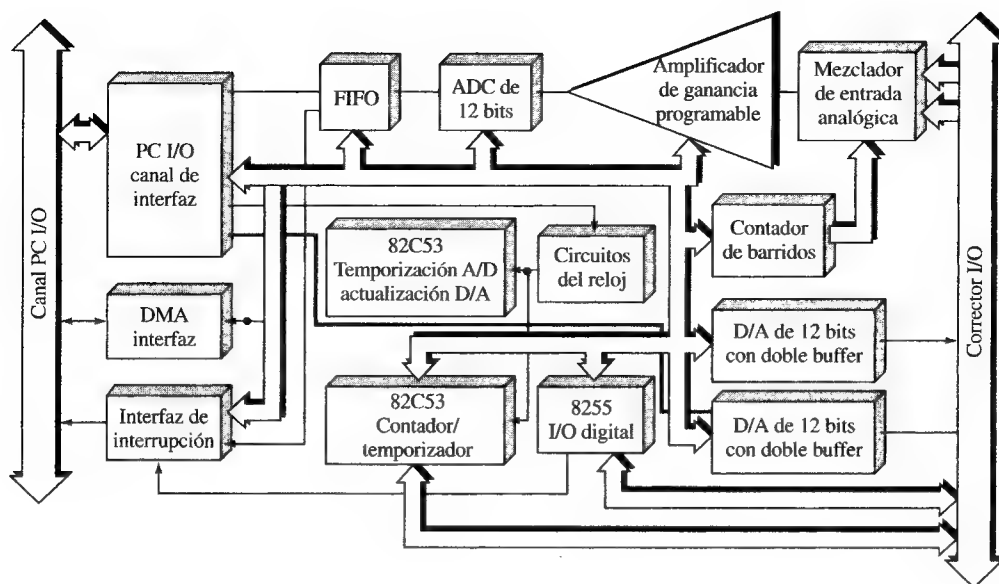


Figura 4-13. Módulo de adquisición de datos de un ordenador: diagrama de bloques del módulo. (Reimpreso con autorización del propietario con copyright, National Instruments Corporation.)

CD-ROM y las señales detectadas de los instrumentos analíticos. Entre los dispositivos de salida se pueden citar registradores, impresoras, tubos de rayos catódicos, pantallas y cintas magnéticas o discos. Es importante tener en cuenta que muchos de estos dispositivos proporcionan o utilizan una señal *analógica* aunque, como se indicó antes, el ordenador sólo puede responder a señales digitales. Por tanto, una parte importante del sistema de entrada/salida es un *convertidor analógico-digital* que suministre los datos al ordenador de forma que los pueda tratar, y un *convertidor digital-analógico* que transforme la salida del ordenador en una señal analógica utilizable.

Una parte importante del hardware para la adquisición computerizada, el análisis y la salida de información analítica es el módulo de adquisición de datos. Estos dispositivos se pueden conectar directamente al bus de un microordenador y proporcionan datos en términos de conversión analógico-digital para realimentar los datos en un experimento a través de un ADC, para proporcionar una temporización crítica durante el proceso y para transferir datos digitales al ordenador directamente. La Figura 4-13 muestra un diagrama de bloques de un módulo de adquisición de datos típico. Incluye un ADC, un DAC, un amplificador de ganancia programable, líneas de entrada y salida digitales, me-

moria para el almacenamiento de datos temporales y un reloj de precisión en tiempo real para la temporización crítica de la adquisición de datos. El proceso entero de adquisición de datos se lleva a cabo a través de un potente microprocesador, que recibe las instrucciones seleccionadas por el usuario desde el microordenador primario al que está conectado.

El ordenador principal realiza el almacenamiento de datos masivo a largo plazo utilizando cualquier paquete de software de entre la gran variedad existente, tal como el National Instruments, LabView® o LabWindows®. El operador controla todo el proceso de manera interactiva a través del ordenador principal. Casi todos los instrumentos o experimentos se pueden acoplar con un ordenador para obtener análisis y datos instrumentales más eficaces utilizando microordenadores y módulos de adquisición de datos como los descritos.

4F. SOFTWARE DE ORDENADORES²

4F-1. Programación

La comunicación con un ordenador supone ajustar una enorme cantidad de conmutadores electrónicos

² R. E. Dessy, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 650A, 756A.

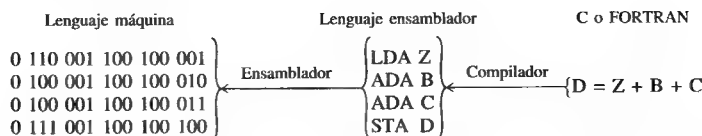


Figura 4-14. Relaciones entre lenguaje máquina, lenguaje ensamblador y lenguajes de alto nivel FORTRAN y C. (LDA Z = Cargar el valor de Z en el registro A; ADA B = añadir el valor de B al contenido del registro A; ADA C = añadir el valor de C al contenido del registro A; STA D = almacenar el contenido del registro A como D.)

a los estados de desconectado o conectado (0 y 1) adecuado. Un programa consta de un conjunto de instrucciones que indican cómo se deben situar estos conmutadores en cada paso del programa. Estas instrucciones deben escribirse de forma que el ordenador pueda responder, esto es, en un *código máquina binario*. Codificar en lenguaje máquina es largo y tedioso, y propenso a cometer errores. Por ello, se han desarrollado *lenguajes ensambladores* en los que las etapas de ajuste de los conmutadores se ensamblan en grupos que pueden designarse por nemotécnicos. Por ejemplo, el nemotécnico para la substracción puede que sea SUB y puede que corresponda a 101 en lenguaje máquina. Evidentemente, para el programador es mucho más fácil recordar SUB que 101.

La programación en lenguaje ensamblador, aunque es más sencilla que la programación en lenguaje máquina, sigue siendo tediosa. Por esta razón se han desarrollado varios lenguajes de alto nivel, tales como FORTRAN, BASIC, APL, PASCAL, FORTH y C. Estos lenguajes se han diseñado para comunicarse con el ordenador de forma relativamente directa. Las instrucciones en lenguaje de alto nivel se traducen con un programa de ordenador, denominado *compilador*, a lenguaje ensamblador y finalmente a lenguaje máquina, que puede ser entonces leído e interpretado por el ordenador. Hasta aproximadamente el año 1985, el uso de lenguajes de alto nivel implicó un compromiso entre la memoria disponible por el sistema y el tiempo requerido para programar el ordenador en lenguaje ensamblador, ya que la programación en lenguaje ensamblador es considerablemente más eficaz en cuanto a memoria se refiere que los lenguajes de alto nivel. Sin embargo, durante más de dos décadas, la capacidad de memoria de los ordenadores se ha duplicado cada dos años, y el coste por bit almacenado ha disminuido. Por esta razón la elección de un lenguaje de programación es una cuestión de gusto, destreza en su manejo y conveniencia para

cada aplicación. El lenguaje ensamblador resulta esencial para el control detallado de un ordenador y de su hardware. Para rutinas de entrada y salida de datos de funciones de alto nivel de hardware, la mejor elección es el lenguaje en C. Hace casi 40 años se diseñó y escribió el lenguaje FORTRAN para computaciones científicas, que todavía es el lenguaje más utilizado en aplicaciones científicas. Se encuentran con facilidad amplias y bien documentadas librerías de subrutinas en lenguaje FORTRAN³. La Figura 4-14 muestra una aplicación del lenguaje FORTRAN, el lenguaje C y el lenguaje ensamblador para realizar una suma.

4F-2. Aplicaciones de software de alto nivel

Una consecuencia de la era de los ordenadores personales es la amplia variedad de programas útiles y al alcance de los estudiantes, profesores y científicos. Han aparecido numerosos lenguajes de ordenador, como el BASIC, el FORTRAN o el C, procesadores de texto, correctores de ortografía, hojas de cálculo, administradores de archivos, sistemas de tratamiento de datos, navegadores de Internet y otras herramientas útiles. La aparición de la interfaz gráfica para el usuario, o GUI, comercializada por Apple Computer en su línea de ordenadores Macintosh y que ha sido perpetuada en Microsoft Windows®, ha supuesto un software altamente funcional y fácil de manejar que es muy utilizado. Una aplicación de software de alto nivel particularmente útil para los químicos es la hoja de cálculo. Microsoft Excel®, Lotus 1-2-3® y Quattro Pro® son tan sólo tres de los más importantes ejemplos.

³ W. H. Press, S. A. Teukolsky, William T. Vetterling y B. P. Flannery, *Numerical Recipes in FORTRAN: The Art of Scientific Computing*, 2.ª ed. New York: Cambridge, 1992. Estas rutinas están disponibles en versiones para FORTRAN 77, FORTRAN 90, C y Pascal.

Hojas de cálculo

Las hojas de cálculo fueron originalmente diseñadas como herramienta para los negocios, pero al ganar popularidad debido a su sencillo manejo, comenzó a utilizarlas todo tipo de usuarios para llevar a cabo cálculos numéricos en diversos campos, entre el que se incluye el científico. Los fabricantes de software observaron la diversidad de sus clientes, y fue entonces cuando se empezó a añadir a sus hojas de cálculo funciones muy sofisticadas y especializadas. Por ejemplo, ahora Microsoft Excel® contiene muchas funciones que se pueden utilizar para ahorrar pasos en el desarrollo de análisis complejos estadísticos o de ingeniería. Estas relaciones incluyen funciones estadísticas básicas como son la media, la desviación típica, la mediana, la moda o el histograma; funciones estadísticas avanzadas como el sesgo, la curtosis y las variadas funciones

de distribución; y otras funciones avanzadas como son los mínimos cuadrados lineales y no lineales, el análisis χ^2 y el análisis de la varianza. La Figura 4-15 muestra una hoja de cálculo de Microsoft Excel® para el análisis y la representación de archivos de datos de espectros. Las columnas A y B de la hoja de cálculo contienen datos del espectro infrarrojo de la 2,2'-bipiridina. Los datos se obtuvieron en un espectrómetro de IR de transformada de Fourier, se almacenaron en un disco flexible y se importaron como un archivo de texto en Excel® que se ejecutó en un segundo ordenador.

Programas de resolución de ecuaciones

Una herramienta de especial interés para los químicos son los programas de resolución de ecuaciones, programas capaces de resolver rápidamente ecuaciones complejas como las que aparecen en el estu-

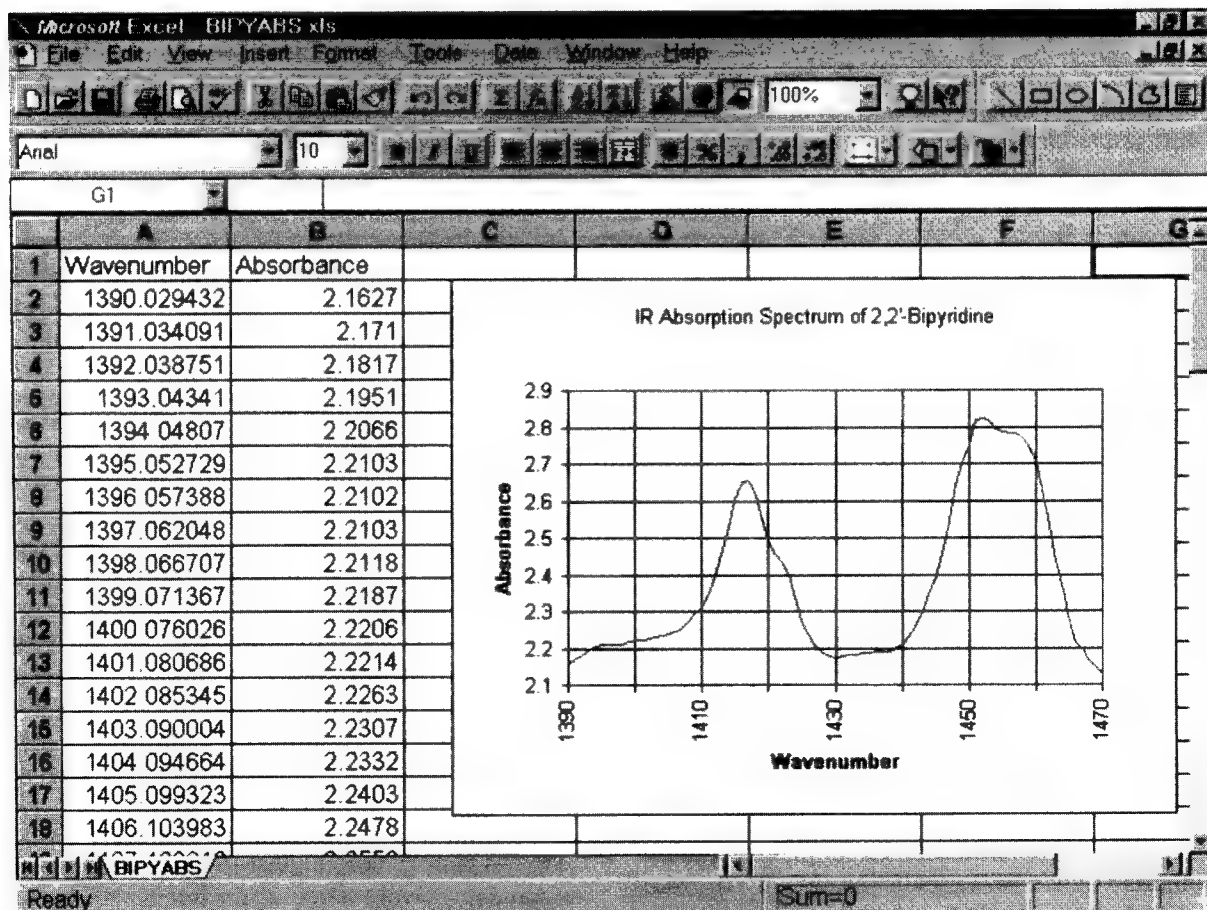


Figura 4-15. Visualización en la pantalla de un ordenador de una hoja de cálculo de Excel® que contiene datos del espectro de absorción de 2,2'-bipiridina.

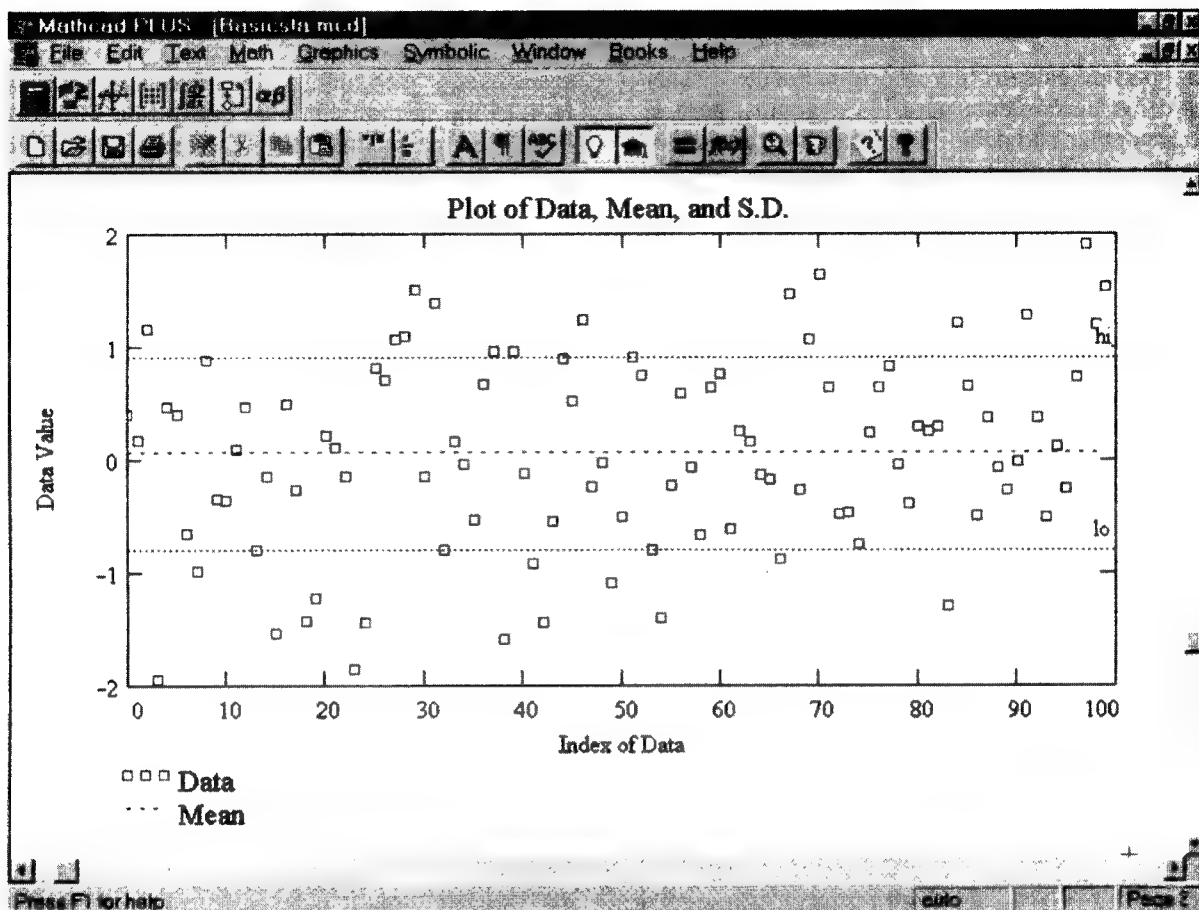


Figura 4-16. Visualización en la pantalla de un ordenador de un documento de Mathcad® para un análisis estadístico básico de los datos de un experimento. (Software cortesía de Mathsoft, Inc.)

dio del equilibrio múltiple. Existen varios, como el TK Solver Plus®, Mathematica®, Maple® y Mathcad®. Todos estos programas han sido muy revisados y verificados, por lo que la elección depende de la aplicación y de los recursos disponibles. Dado su bajo coste, su potencia, su facilidad de manejo y su naturaleza intuitiva para la representación de expresiones matemáticas complejas, Mathcad® se ha extendido en el campo de las ciencias físicas y en la ingeniería para la resolución de una gran variedad de problemas computacionales, desde análisis básico estadístico hasta problemas de autovalores y autovectores en química cuántica.

La Figura 4-16 muestra una aplicación de Mathcad® al análisis estadístico de un conjunto grande de datos adquiridos por un instrumento analítico o proporcionados por el usuario. La media y desviación típica de los datos se calculan automáti-

camente y se muestran en un diagrama de dispersión para revelar errores sistemáticos en los datos. La media y la desviación típica se representan en el diagrama como líneas horizontales. Se pueden conseguir o bajar de Internet paquetes de aplicación específica de Mathcad® para una gran variedad de problemas científicos o de ingeniería. La referencia mostrada a pie de página indica más ejemplos de documentos de Mathcad® y otros ejemplos relacionados con la química analítica⁴.

Paquetes científicos

Se han desarrollado algunos paquetes de software específicos para su uso en química y en las ciencias relacionadas. Se dispone de programas para tareas

⁴ F. J. Holler, *Mathcad Applications for Analytical Chemistry*, Philadelphia: Saunders College Publishing, 1994.

tan diversas como la representación gráfica de estructuras moleculares orgánicas como ChemWindows® y Chemdraw®, para la realización de cálculos termodinámicos como HSC Chemistry for Windows®, para la representación de datos científicos como Jandel Scientific's SigmaPlot® y Mathsoft's Axum®, para ajuste de curvas como Jandel Scientific's TableCurve® y PeakFit® y para análisis de datos de espectroscopia y su representación como Galactic Industries' GRAMS/32®.

Para mostrar la utilidad de esta variedad de software para el análisis de datos, considérese el programa GRAMS/32®. El nombre de GRAMS/32® proviene de Graphic Relational Array Management System, y se refiere tanto a espectrogramas como a cromatogramas. El número 32 significa que está optimizado para operar en microordenadores de 32 bits como el Intel Pentium®. El GRAMS/32® es capaz de leer, analizar y traducir archivos de datos generados por más de cien instrumentos químicos diferentes y otros paquetes de software, incluyendo espectrómetros, cromatógrafos y otros instrumentos. Los archivos de datos se pueden traducir desde y hasta estos formatos de archivo, que incluyen el formato ASCII, el formato de coma flotante y otros formatos de hojas de cálculo, así como también formatos de espectroscopia estándar como el JCAMP.

Se pueden realizar fácilmente con el programa GRAMS/32® la transformación de Fourier, el suavizado de datos, el filtrado digital, la deconvolución, el ajuste de curvas y diversas operaciones matemáticas como la diferenciación, la integración, la interpolación y las conversiones entre la absorbancia y la transmitancia. Algunas de estas funciones se comentarán en el Capítulo 5. El programa GRAMS/32® puede proporcionar muchos tipos diferentes de representación de datos, en los que se incluyen gráficos de barras, múltiples, tridimensionales y de contorno para el análisis y la interpretación de datos químicos. La Figura 4-17 muestra un ejemplo de la representación gráfica de los datos obtenidos con un detector de diodos en serie acoplado a un cromatógrafo. Se representan los datos tridimensionales de tres maneras: mediante la representación del contorno del conjunto completo de los datos en la mitad inferior de la pantalla, mediante la gráfica cromatográfica obtenida a 704,84 nm en la parte superior izquierda de la pantalla y mediante la gráfica espectral obtenida a 10,524 minutos en el experimento cromatográfico en la parte superior derecha de la pan-

talla. El analista sitúa las líneas cruzadas mostradas en el gráfico de líneas de contorno para indicar dónde se deben tomar los puntos de referencia espectrales y cromatográficos. Estas herramientas de software son fundamentales para obtener el espectro de los componentes individuales de una mezcla de compuestos separados por cromatografía. El programa GRAMS/32® y otros paquetes similares están tomando un gran protagonismo como conjunto de herramientas del químico para un análisis eficiente.

4G. APLICACIONES DE ORDENADORES⁵

La interacción de los ordenadores con los instrumentos analíticos son de dos tipos: *pasivas* y *activas*. En las interacciones pasivas, el ordenador no participa en el control del experimento sino que sólo se utiliza para manipular, tratar, almacenar, buscar en archivos o visualizar los datos. En una interacción activa, la salida del ordenador controla la secuencia de pasos necesaria para el funcionamiento del instrumento. Por ejemplo, en una determinación espectroscópica, el ordenador puede elegir la fuente adecuada, hacer que se active dicha fuente y que se ajuste su intensidad a un valor adecuado, hacer que la radiación pase a través de la muestra y, a continuación, a través del blanco, controlar al monocromador de forma que seleccione la longitud de onda adecuada, ajustar la respuesta del detector y registrar el valor de la intensidad. Además, el ordenador se puede programar para utilizar los datos a medida que se van recogiendo, para así variar las condiciones experimentales de forma que se mejore la calidad de los subsiguientes datos. Los instrumentos controlados por ordenador se denominan *automatizados*.

4G-1. Aplicaciones pasivas

El tratamiento de los datos por un ordenador puede implicar operaciones matemáticas relativamente simples tales como cálculo de concentraciones, promediado de los datos, análisis por mínimos cuadrados, análisis estadístico e integración para obtener áreas de pico. Entre los cálculos más complejos se pueden mencionar la resolución de varias ecua-

⁵ A. P. Wade y S. R. Crouch, *Spectroscopy*, 1988, 3(10), 24.

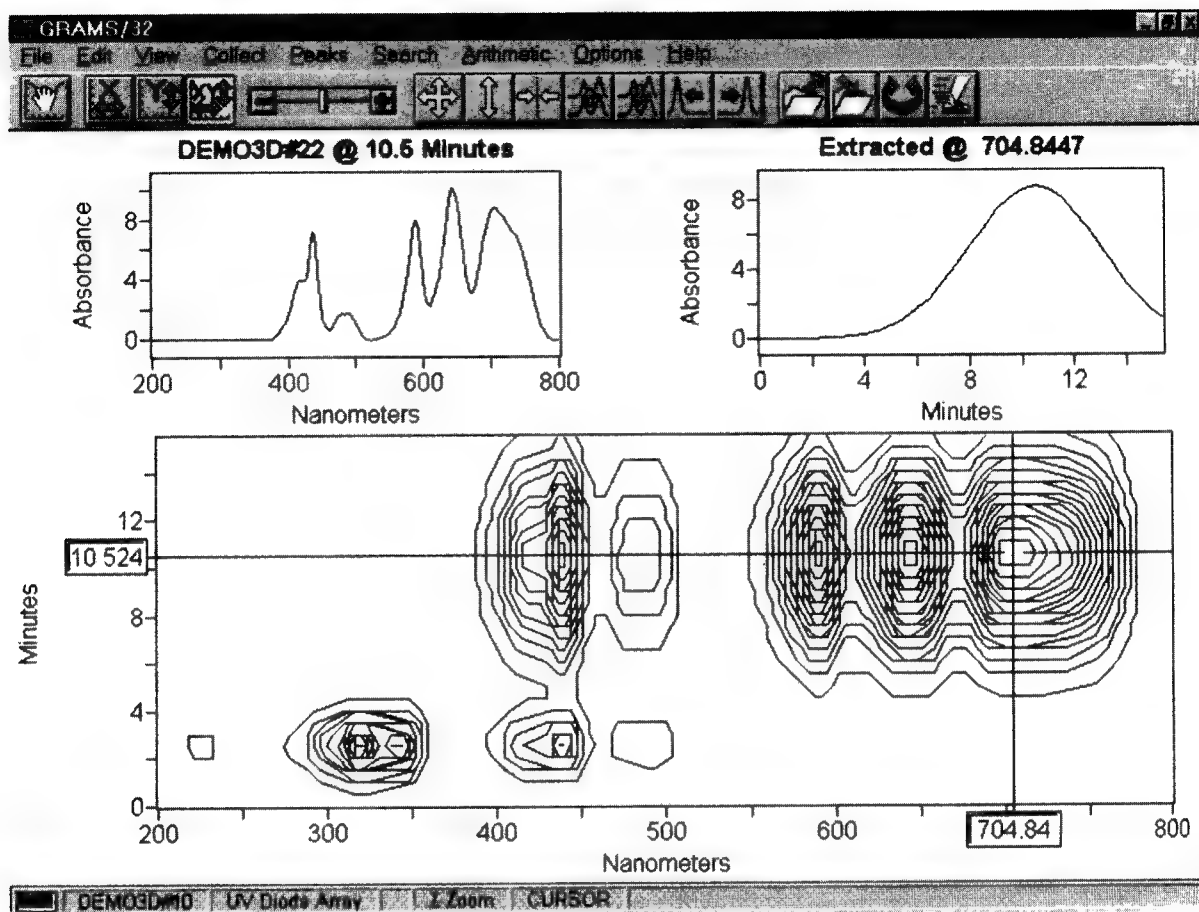


Figura 4-17. Visualización en la pantalla de un ordenador de un cromatograma espectral bidimensional con el software de análisis de datos GRAMS/32®. (Software cortesía de Galactic Industries, Inc.)

ciones simultáneas, el ajuste de curvas, el promedio y la realización de transformaciones de Fourier.

El almacenamiento de datos es otra importante función pasiva de los ordenadores. Por ejemplo, la unión de la cromatografía de gases (GC) con la espectrometría de masas (MS) da como resultado una potente herramienta para el análisis de mezclas complejas. La cromatografía de gases separa las mezclas en función del tiempo necesario para que los componentes individuales aparezcan al final de las columnas cromatográficas adecuadas. La espectrometría de masas permite la identificación de cada componente según la masa de los fragmentos formados cuando el compuesto se bombardea con unas determinadas partículas de entre los diversos tipos existentes, como puede ser un haz de electrones. Los equipos de GC/MS pueden producir datos de hasta 100 espectros en unos pocos minutos, y

cada uno de los espectros está constituido por decenas o centenares de picos. La conversión de estos datos a una forma interpretable (una gráfica) en tiempo real resulta, a menudo, imposible. Por tanto, los datos suelen almacenarse en forma digital para el posterior tratamiento y presentación en forma gráfica.

La identificación de una especie a partir de su espectro de masas se realiza mediante una búsqueda en los archivos de espectros de los compuestos puros hasta que se encuentre una concordancia; este proceso realizado de forma manual es largo, pero puede llevarse a cabo rápidamente con la ayuda de un ordenador. En este caso, se buscan los espectros de los compuestos puros, almacenados en un disco duro, hasta encontrar espectros similares a los del analito. En un minuto o menos puede realizarse un barrido de varios miles de espectros. Este tipo de búsqueda suele dar como resultado va-

rios posibles compuestos. El científico compara posteriormente estos espectros, lo que permite, a menudo, la identificación.

Otra importante aplicación pasiva de la potencia de los ordenadores en GC/MS utiliza la capacidad que el ordenador posee para recoger y correlacionar los datos a alta velocidad. Así, por ejemplo, se le puede pedir al ordenador que visualice en una pantalla de rayos catódicos el espectro de masas de cualquiera de los componentes separados que han salido de una columna de cromatografía de gases.

4G-2. Aplicaciones activas

En las aplicaciones activas sólo se dedica parte del tiempo del ordenador a la recogida de datos, mientras que el resto se emplea para el control y el procesamiento de los mismos. Así pues, las aplicaciones activas son operaciones en tiempo real. La mayoría de instrumentos modernos incorporan uno o varios microprocesadores que realizan funciones de control. Entre los ejemplos se incluyen el ajuste de (1) la anchura de la rendija y la selección de las longitudes de onda en un monocromador, (2) la temperatura de una columna cromatográfica, (3) el potencial aplicado a un electrodo, (4) la velocidad de adición de un reactivo y (5) el tiempo al que empieza la integración de un pico. En referencia, de nuevo, al instrumento de GC/MS considerado en el apartado anterior, normalmente se utiliza un ordenador para iniciar la recogida de los datos por espectrometría de masas cada vez que se detecta la señal de salida de un compuesto de la columna cromatográfica.

El control con un ordenador puede ser bastante sencillo, como en los ejemplos que se acaban de indicar, o bien algo más complejo. Por ejemplo, la determinación de la concentración de los elementos por emisión atómica supone la medida de las alturas de los picos de emisión, los cuales aparecen a longitudes de onda características para cada elemento. En este caso, el ordenador puede hacer que un monocromador barra con rapidez un intervalo de longitudes de onda hasta que detecte un pico. A continuación, la velocidad del barrido disminuye para determinar mejor a qué longitud de onda exacta se obtiene la máxima señal de salida. En este punto se realizan repetidas medidas de intensidad hasta obtener un promedio que dé una adecuada relación señal/ruido. El ordenador repite esta operación para cada pico del espectro que sea de

interés. Finalmente, el ordenador calcula e imprime las concentraciones de los elementos presentes.

Debido a su gran velocidad, un ordenador puede, a menudo, controlar variables de forma más eficiente que un operador humano. Además, en algunos experimentos, un ordenador se puede programar para cambiar la forma en que se realiza la medida según cuál sea la naturaleza de los datos iniciales. En esta situación se emplea un circuito de realimentación en el que la señal de salida se convierte en señal digital y se realimenta a través del ordenador, sirviendo para controlar y optimizar la manera en que se realicen posteriores medidas.

4H. REDES DE ORDENADORES

La conexión de dos o más ordenadores da lugar a una red de ordenadores o, sencillamente, una *red*. Si la comunicación entre ordenadores se controla por medio del software, se puede aumentar la eficacia en la transmisión y en el tratamiento de la información de manera significativa. Las redes abarcan un gran número de posibles interacciones entre ordenadores, pero pueden clasificarse en uno o dos tipos principales. La primera es Internet, la cual es capaz de transmitir rápidamente representaciones digitales de una variedad increíble de información de textos, gráficos, audio y vídeo a todo el mundo. Internet evolucionó a partir de un proyecto gubernamental en 1960 denominado ARPANET

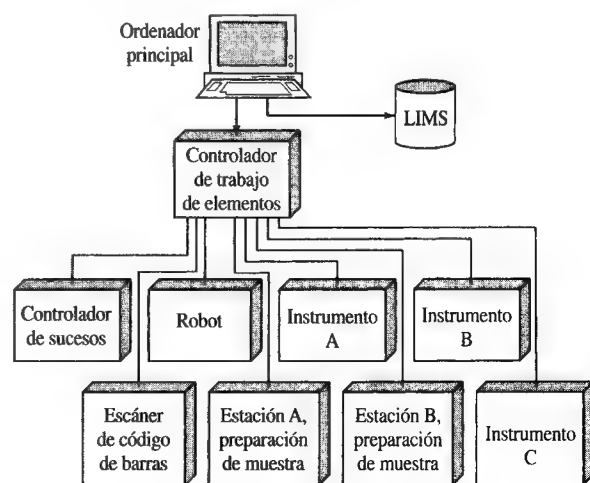


Figura 4-18. Configuración de hardware genérico de una LAN. (Reimpreso con el permiso de B. Fowler, Amer. Lab., 1988, 19(9), 62. Copyright 1988 por International Scientific Communications, Inc.)

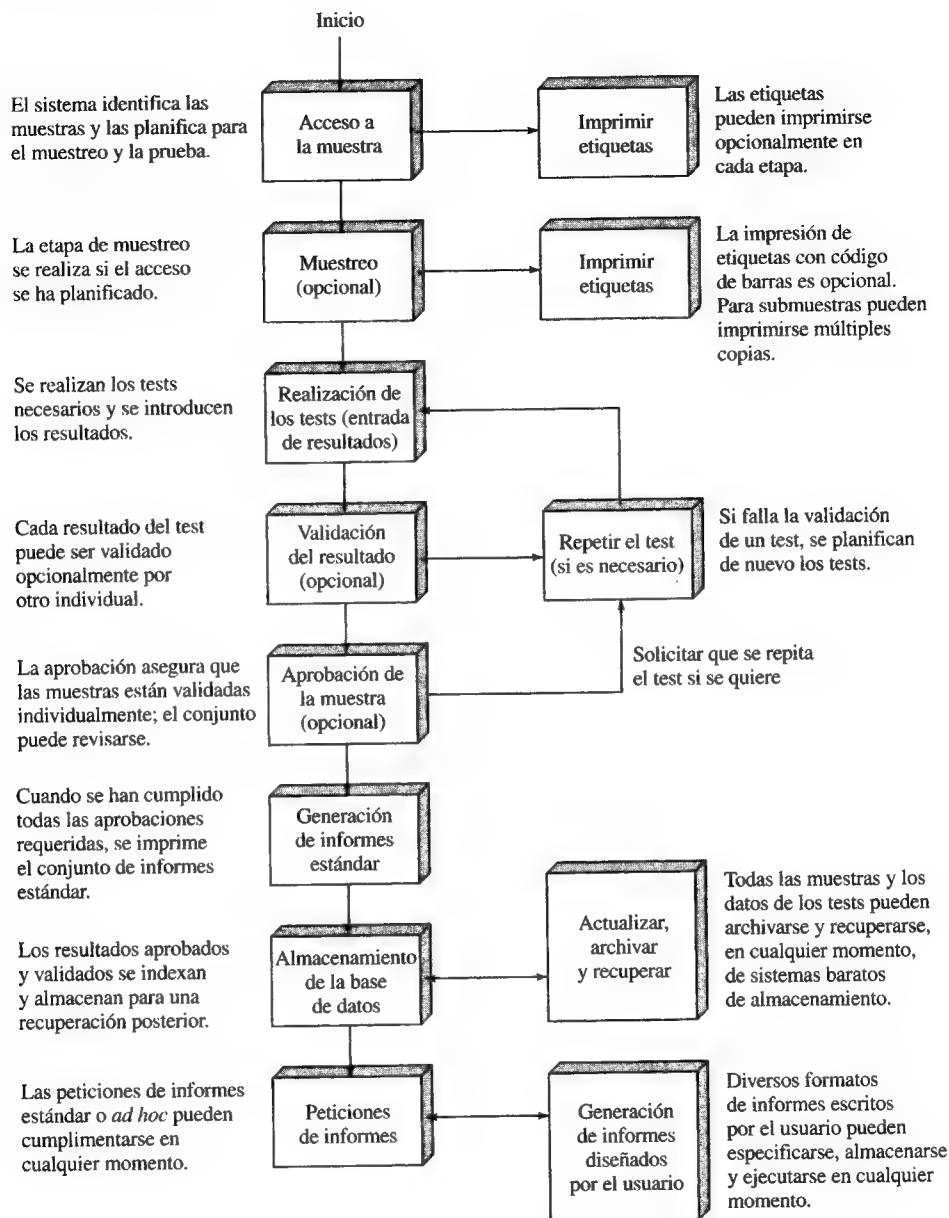


Figura 4-19. Datos LIM y esquema del manejo de muestreo. (Reimpreso con el permiso de F. I. Scott, Amer. Lab., 1987, 19(11), 50. Copyright 1987 por International Scientific Communications, Inc.)

cuyo desarrollo comenzó a principios de los sesenta por orden del servicio militar de los Estados Unidos para proporcionar una comunicación rápida entre el gobierno, los ordenadores militares y los ingenieros investigadores. Al tiempo que apareció el ordenador personal al principio de los años ochenta y los usuarios descubrieron la potencia y la conveniencia de la tecnología de trabajo con redes,

diversas universidades y compañías privadas comenzaron a conectarse a la red. Cuando el gobierno declinó el mantenimiento de la red en 1989, se formuló un plan para el posterior desarrollo comercial y el mantenimiento de Internet. El continuo desarrollo del ordenador personal y de la tecnología para la conexión de redes, así como la popularidad alcanzada por el correo electrónico y la World Wi-

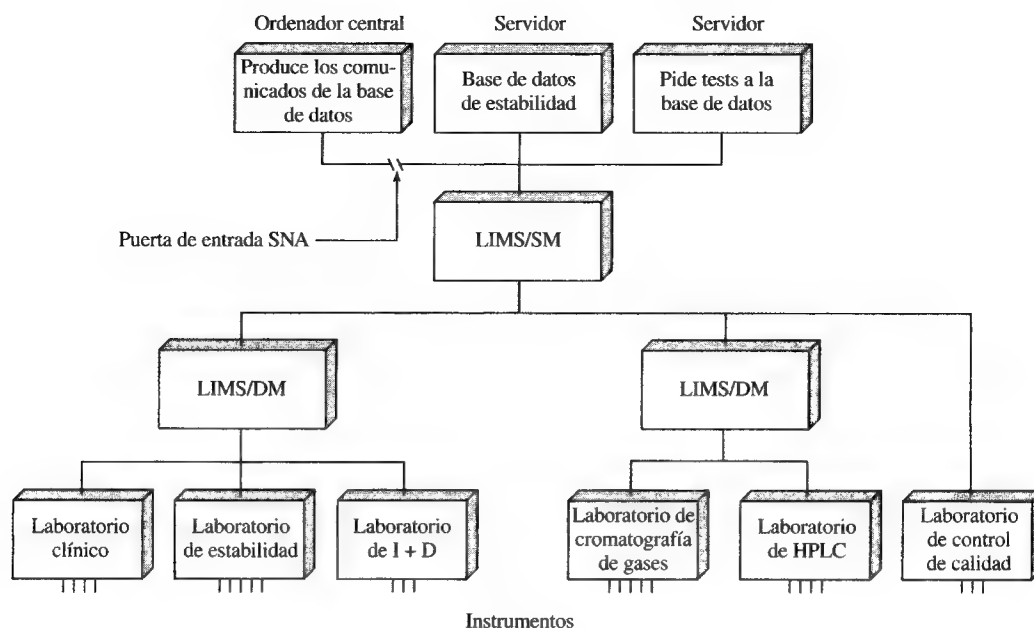


Figura 4-20. Diagrama de bloques de un sistema de laboratorio completamente automatizado. (Reimpreso con el permiso de E. L. Copper y E. J. Turkel, Amer. Lab., 1988, 20(3), 42. Copyright 1988 por International Scientific Communications, Inc.)

de Web han conducido a la utilización masiva de Internet que estamos viviendo. Se espera de Internet que evolucione en las denominadas superautopistas de información, lo cual supondrá llevar la tecnología de Internet a todos los hogares a muy alta velocidad por medio de cables o hilos telefónicos (cientos de megabits por segundo). Con el tiempo, la mayoría de la información mundial, incluyendo la científica, los periódicos y otros tipos de noticias, estará disponible en Internet.

Paralelamente al desarrollo de Internet aparecen las redes locales, o LAN (Local Area Network)⁶. En casi todas las organizaciones se puede encontrar una LAN, como en los laboratorios científicos de universidades, en las agencias gubernamentales o las compañías privadas. El uso eficaz de una LAN en un entorno científico requiere que se diseñe específicamente para atender a las necesidades de un laboratorio determinado. En general, las LAN proporcionan una red básica de comunicación que posibilita la transmisión eficiente de información entre instrumentos computarizados, dispositivos de entrada y salida y diferentes ordenadores. La Figura 4-18 ilustra una configuración genérica de una

LAN. Obsérvese que aunque no se representan, todos los bloques de este sistema se comunican con el controlador de trabajo de las células (un ordenador responsable de la transmisión de los datos) a través de un microprocesador o de un ordenador personal. Un *sistema de gestión de la información de laboratorio* (LIMS)⁷ se incluye en la parte superior derecha de esta figura. El manejo de los datos es una de las tareas principales en cualquier laboratorio, y un LIMS correctamente diseñado no perderá de vista información alguna acerca de todas las muestras y de todos los proyectos que se hayan completado o estén en marcha. La Figura 4-19 resume bastantes de los procesos que podrían controlarse por un LIMS en un laboratorio de ensayos y proporciona una visión general de algunas de las opciones que podrían tomarse cuando se procesa una muestra. Finalmente, la Figura 4-20 representa un diagrama de bloques de un sistema de ordenador, diseñado para automatizar totalmente un laboratorio entero. Obsérvese que en la parte inferior de esta figura, se representan mediante casillas laboratorios completos; dentro de cada uno de estos la-

⁶ R. E. Dessy, *Anal. Chem.*, 1982, 54, 1167A, 1295A.

⁷ R. E. Dessy, *Anal. Chem.*, 1983, 55, 70A, 277A; R. Megargle, *Anal. Chem.*, 1989, 612A.

boratorios, una red local se utilizaría para coordinar las actividades y para comunicarse con el siguiente nivel jerárquico. En este sistema se distinguen dos clases diferentes de LIMS; los que se designan por /DM son estándar para la gestión de datos LIMS, mientras que la designación /SM supone la gestión de sistema/muestra. Esencialmen-

te, la única diferencia entre estos ordenadores de coordinación, o servidores, es el software que controla la comunicación y el manejo de los datos. La entrada SNA Gateway representa un medio para conectar este grupo de ordenadores de laboratorio con el servidor principal de los centros principales de la corporación.

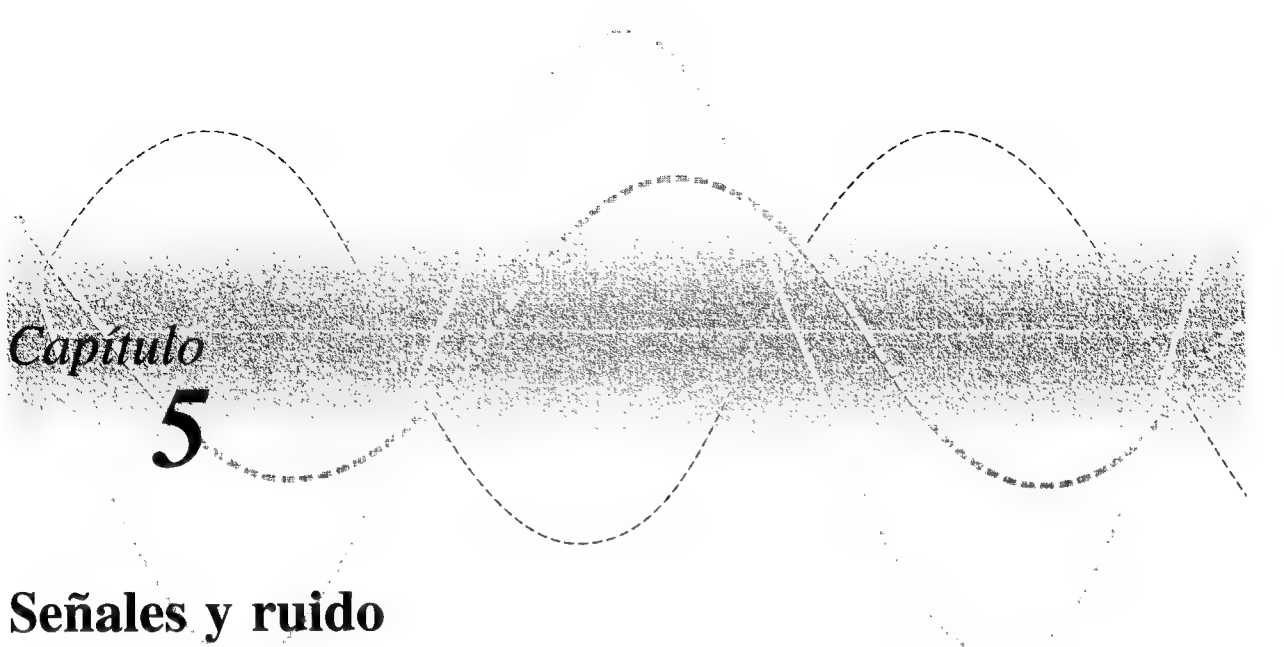
4I. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 4-1. Convertir en su binario correspondiente cada uno de los siguientes números decimales.
(a) 24 (b) 79 (c) 136 (d) 581
- 4-2. Convertir en su decimal correspondiente cada uno de los siguientes números binarios.
(a) 101 (b) 10101 (c) 11100010 (d) 1101001001
- 4-3. Tres ADC (convertidores analógico-digital) tienen todos un intervalo de 0 a 10 V. ¿Cuál es la máxima incertidumbre en la digitalización de una señal de 10 V si los convertidores tienen
(a) 8 bits? (b) 12 bits? (c) 16 bits?
- 4-4. Repetir el Problema 4-3 si se digitaliza una señal de 1 V utilizando los mismos tres convertidores.
- 4-5. El porcentaje de error máximo de una tensión procesada por un ACD queda definido por la siguiente ecuación:

$$\% \text{ máx error} = (\text{máxima incertidumbre/tensión medida}) \times 100 \%$$

Si se utiliza el mismo ADC, ¿cómo se comparan los errores porcentuales en las tensiones medidas, si éstas son 10 V y 1 V?

- 4-6. Los convertidores analógico-digitales digitalizan a diferente velocidad. ¿Cuál es la velocidad de conversión necesaria si un pico cromatográfico se muestrea y digitaliza 20 veces entre la primera deflexión positiva desde la línea base hasta que el pico vuelve a la línea base? El tiempo total entre líneas base es de: (a) 20 s. (b) 1 s.
- 4-7. Un ADC dado de 12 bits tiene un tiempo de conversión de 8 μ s. ¿Cuál es la máxima frecuencia que se puede registrar con precisión con este dispositivo, suponiendo que se cumple el criterio de Nyquist (véase el Apartado 5C-2)?
- 4-8. El chip de un procesador Pentium a 200 MHz fabricado por Intel tiene un conjunto de instrucciones a 64 bits, un bus de dirección de 32 bits y es capaz de realizar más de 200 millones de instrucciones por segundo. (a) ¿A cuántas localizaciones de memoria se puede acceder directamente con este dispositivo? (b) ¿Cuántas instrucciones puede ejecutar el procesador Pentium?



Capítulo 5

Señales y ruido

Cada medida analítica consta de dos componentes. La primera, la señal, lleva la información relativa al analito que es de interés para el químico. La segunda, denominada ruido¹, está compuesta por información ajena que es indeseada porque degrada la exactitud y la precisión de un análisis y además establece un límite inferior en la cantidad de analito que se puede detectar². En este capítulo se describen algunas de las fuentes más comunes de ruido y cómo se pueden minimizar sus efectos.

¹ El término **ruido** proviene de la ingeniería radioeléctrica en la que la presencia de señales no deseadas se pone de manifiesto como audio estático o ruido. En la actualidad, el término se utiliza en ciencia e ingeniería para describir las desviaciones aleatorias observadas, cuando se repiten medidas de señales que se controlan de forma continua. Estas fluctuaciones son aleatorias y por tanto se pueden describir y tratar mediante métodos estadísticos (véase Sección a1B, Apéndice 1).

² Para una exposición más detallada del ruido, véase T. Coor, *J. Chem. Educ.*, **1968**, 45, A533, A583; G. M. Hieftje, *Anal. Chem.*, **1972**, 44(6), 81A; A. Bezech y J. Janata, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 494A; M. E. Green, *J. Chem. Educ.*, **1984**, 61, 600; H. V. Malmstadt, C. G. Enke y S. R. Crouch, *Microcomputers and Electronic Instrumentation: Making the Right Connections*. Washington, DC: American Chemical Society, 1994.

5A. RELACIÓN ENTRE SEÑAL Y RUIDO

El efecto del ruido sobre la señal se muestra en la Figura 5-1a, la cual corresponde al registro, en la tira de papel, de una diminuta señal de corriente continua de aproximadamente 10^{-15} A. La Figura 5-1b es una representación teórica de la misma corriente en ausencia de ruido. La diferencia entre las dos gráficas corresponde al ruido asociado a ese experimento. Por desgracia, nunca se pueden obtener en el laboratorio datos sin ruido, como los de la Figura 5-1b, ya que algunos tipos de ruido tienen su origen en efectos termodinámicos y cuánticos imposibles de evitar en una medida.

En la mayoría de las medidas, el valor promedio de la señal de ruido R es constante e independiente de la magnitud de la señal S . Así pues, el efecto del ruido en el error relativo de una medida aumenta a medida que disminuye el valor de la cantidad medida. Por esta razón, la *relación señal/ruido* (S/R) es un parámetro de calidad mucho más útil que el ruido solo para describir la calidad de un método analítico o el funcionamiento de un instrumento.

Para una señal de corriente continua, como la de la Figura 5-1a, la magnitud del ruido se define como la desviación estándar s de numerosas medi-

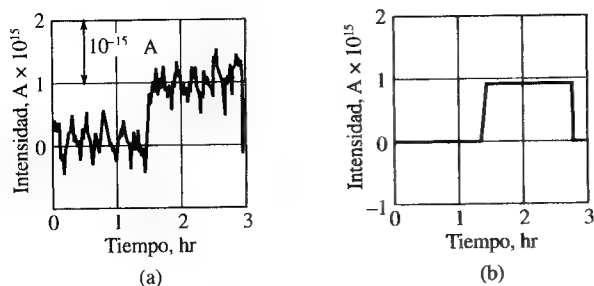


Figura 5-1. Efecto del ruido en una medida de corriente. (a) Registro gráfico experimental de una corriente continua de $0,9 \times 10^{-15}$ A. (b) media de las fluctuaciones. (Adaptado de T. Coor, J. Chem. Educ., 1968, 45, A594. Con autorización.)

das de la intensidad de la señal, la cual viene dada por la media $\bar{x}$ de las medidas. Por tanto, S/R viene dado por

$$\frac{S}{R} = \frac{\text{media}}{\text{desviación estándar}} = \frac{\bar{x}}{s} \quad (5-1)$$

Hay que tener en cuenta que la relación señal/ruido $\bar{x}/s$ es la inversa de la desviación estándar relativa RSD del conjunto de medidas (véase Sección a1B-1, Apéndice 1). Esto es,

$$\frac{S}{R} = \frac{1}{\text{RSD}} \quad (5-2)$$

Para una señal registrada como la que se muestra en la Figura 5-1a, la desviación estándar puede estimarse fácilmente para un nivel de confianza del 99 por 100 dividiendo por cinco la diferencia entre la señal máxima y mínima. En este caso, se supone que las variaciones respecto de la media son aleatorias y se pueden tratar estadísticamente. En la Figura a1-5 del Apéndice 1, se observa que el 99 por 100 de los datos bajo la curva normal de error caen dentro de $\pm 2,5\sigma$ de la media. De esta forma, se puede decir con un 99 por 100 de certeza que la diferencia entre el máximo y el mínimo abarca 5σ . Por tanto, una buena estimación de la desviación estándar puede ser un quinto de la diferencia.

Como norma general, es imposible la detección de una señal cuando la relación señal/ruido es menor de 2 o 3. La Figura 5-2 ilustra esta regla. La representación gráfica superior es un espectro de resonancia magnética nuclear de la progesterona con una relación señal/ruido de aproximadamente

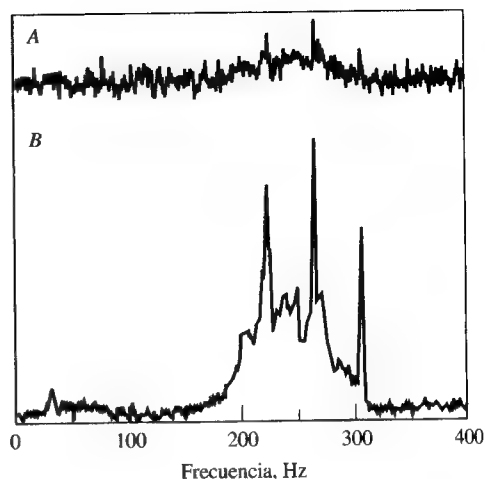


Figura 5-2. Efecto de la relación señal/ruido en el espectro de RMN de la progesterona: A, $S/R = 4,3$; B, $S/R = 43$. (Adaptado de R. R. Ernst y W. A. Anderson, Rev. Sci. Instr., 1966, 37, 101. Con autorización.)

4,3. En la representación inferior el cociente es 43. Para la relación señal/ruido más pequeña, sólo se pueden reconocer con certeza pocos picos.

5B. FUENTES DE RUIDO EN LOS ANÁLISIS INSTRUMENTALES

Dos tipos de ruido afectan a los análisis químicos: el ruido químico y el ruido instrumental.

5B-1. Ruido químico

El ruido químico proviene de multitud de variables incontroladas que afectan a la química del sistema que se analiza. Entre los distintos ejemplos pueden citarse variaciones no detectadas de temperatura o presión que afectan al equilibrio químico, fluctuaciones en la humedad relativa que cambian el contenido de humedad de las muestras, vibraciones que conducen a una estratificación de los sólidos pulverulentos, cambios de la intensidad de la luz que afectan a materiales fotosensibles y humos del laboratorio que interaccionan con las muestras o los reactivos. Los detalles sobre los efectos del ruido químico se exponen en los próximos capítulos que tratan sobre diversos métodos instrumentales específicos. En éste, sólo se tratará el ruido instrumental.

5B-2. Ruido instrumental

El ruido se asocia a cada componente de un instrumento —o sea, a la fuente, al transductor de entrada, a todos los elementos que procesan la señal y al transductor de salida—. Además, el ruido de cada uno de estos componentes puede ser de distintos tipos y provenir de distintas fuentes. Por tanto, el ruido que finalmente se percibe es una mezcla compleja que, por lo general, no se puede caracterizar por completo. Se pueden reconocer ciertos tipos de ruido: (1) ruido térmico o Johnson, (2) ruido de disparo, (3) ruido de parpadeo o $1/f$ y (4) ruido ambiental. Resulta muy interesante realizar una consideración sobre las características de los cuatro tipos de ruido.

Ruido térmico, o ruido Johnson

El ruido térmico se debe a la agitación térmica de los electrones u otros transportadores de cargas en las resistencias, condensadores, detectores de radiación, celdas electroquímicas y otros elementos resistivos de un instrumento. Esta agitación de las partículas cargadas se produce aleatoriamente y origina periódicamente heterogeneidades de carga, que a su vez crean variaciones de tensión que aparecen como ruido en la lectura. Hay que tener en cuenta que el ruido térmico existe incluso en ausencia de corriente de un elemento resistivo y sólo desaparece en el cero absoluto.

La magnitud del ruido térmico se deduce con facilidad a partir de consideraciones termodinámicas³ y se expresa como

$$\bar{v}_{\text{rms}} = \sqrt{4kTRAf} \quad (5-3)$$

donde $\bar{v}_{\text{rms}}$ es la raíz cuadrática media o valor eficaz del ruido de la tensión que está dentro de un ancho de banda de frecuencia de Δf Hz, k es la constante de Boltzmann ($1,38 \times 10^{-23}$ J/K), T es la temperatura en kelvin y R es la resistencia del elemento resistivo en ohmios.

En el Apartado 3B-2 se comentó la relación entre el tiempo de ascenso t_r y el ancho de banda Δf en un amplificador operacional. Estas variables también se utilizan para determinar la capacidad de

los instrumentos completos para detectar y transmitir información. Recuerdese que

$$\Delta f = \frac{1}{3t_r} \quad (5-4)$$

El tiempo de ascenso de un instrumento es el tiempo de respuesta, en segundos, a un cambio brusco de la señal de entrada y por lo general se toma como el tiempo necesario para que la señal de salida aumente del 10 al 90 por 100 de su valor final. Así pues, si el tiempo de ascenso es de 0,01 s, el ancho de banda es de 33 Hz.

La Ecuación 5-3 sugiere que el ruido térmico puede disminuir al estrecharse el ancho de banda. Sin embargo, cuando el ancho de banda se estrecha, el instrumento tarda más en responder a una variación de la señal y se necesita más tiempo para realizar una medida fiable.

EJEMPLO 5-1

¿Qué efecto produce en el ruido térmico una disminución del tiempo de respuesta en un instrumento de 1 s a 1 μ s?

Si se supone que el tiempo de respuesta es aproximadamente igual al tiempo de ascenso, resulta que el ancho de banda ha variado de 1 Hz a 10^6 Hz. Según la Ecuación 5-3, dicho cambio supondrá un aumento del ruido de $(10^6/1)^{1/2}$, o sea, 1.000 veces.

Como se indicó en la Ecuación 5-3, el ruido térmico se puede reducir también disminuyendo la resistencia eléctrica de los circuitos instrumentales y la temperatura de los componentes de los instrumentos. A menudo, el ruido térmico de los detectores se reduce mediante refrigeración. Por ejemplo, la disminución de la temperatura de un detector desde la temperatura ambiente a 298 K a la temperatura del nitrógeno líquido a 77 K reducirá el ruido térmico a la mitad.

Es importante considerar que aunque el ruido térmico depende del ancho de banda de la frecuencia, es independiente de la propia frecuencia; por tanto, a veces se denomina *ruido blanco* por analogía con la luz blanca, la cual contiene todas las frecuencias visibles. También hay que destacar que en los elementos resistivos de los circuitos el ruido térmico es independiente del tamaño físico de la resistencia.

³ Por ejemplo, véase T. Coor, *J. Chem. Educ.*, **1968**, 45, A534.

Ruido de disparo

El ruido de disparo se origina siempre que se produce un movimiento de electrones o de otras partículas cargadas a través de una unión. En un circuito electrónico característico, estas uniones se encuentran en las interfases *pn*; en las fotocélulas y tubos de vacío, la unión sería el espacio vacío entre el ánodo y el cátodo. Las corrientes en tales dispositivos implican una serie de procesos cuantizados; esto es, la transferencia de electrones individuales a través de la unión. Sin embargo, estos sucesos se producen al azar y la velocidad a la cual ocurren está sujeta, por tanto, a fluctuaciones estadísticas que se describen con la ecuación

$$i_{\text{rms}} = \sqrt{2Ie\Delta f} \quad (5-5)$$

donde i_{rms} es la raíz cuadrática media o valor eficaz de las fluctuaciones de corriente relacionadas con la corriente continua promedio, I , e es la carga del electrón, $1,60 \times 10^{-19}$ C y Δf vuelve a ser el ancho de banda de las frecuencias consideradas. Al igual que el ruido térmico, el ruido de disparo es un ruido blanco.

A partir de la Ecuación 5-5 se deduce que el ruido de disparo de una medida de corriente sólo puede minimizarse reduciendo el ancho de banda.

Ruido de parpadeo

El ruido de parpadeo se caracteriza por ser su valor inversamente proporcional a la frecuencia de la señal que se observa; en consecuencia, a veces, se le denomina ruido $1/f$ (uno dividido por f). Las causas del ruido de parpadeo no se comprenden bien; sin embargo siempre existe y su presencia se reconoce por su dependencia de la frecuencia. El ruido de parpadeo es significativo para frecuencias menores de 100 Hz. Una muestra del ruido de parpadeo es la deriva a largo plazo, observada en amplificadores de corriente continua, medidores y galvanómetros. El ruido de parpadeo puede reducirse bastante usando resistencias de filamento enrollado o resistencias de película metálica en vez de las de composición de carbón habituales.

Ruido ambiental

El ruido ambiental es una mezcla de distintos tipos de ruidos procedentes del entorno. En la Figura 5-3 se indican algunas fuentes características de ruido ambiental en un laboratorio universitario.

Gran parte del ruido ambiental se produce a causa de que cada conductor de un instrumento es una antena potencial capaz de captar radiación electromagnética y convertirla en una señal eléctrica. En el entorno existen numerosas fuentes de radiación electromagnética tales como líneas de alimentación de corriente alterna, emisoras de radio y de televisión, sistemas de encendido de los motores de gasolina, conmutadores de arco eléctrico, escobillas de motores eléctricos, alumbrado y perturbaciones ionosféricas. Obsérvese que algunas de estas fuentes, como las líneas de alimentación y las estaciones de radio, originan ruidos con anchos de banda de frecuencia relativamente limitada.

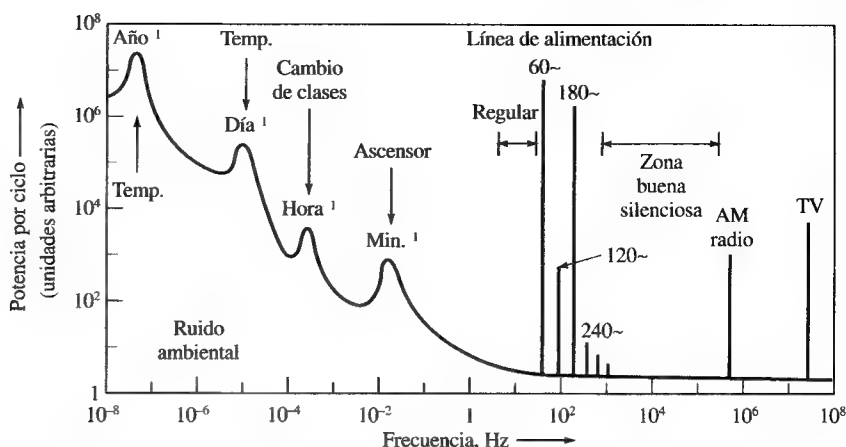
También es destacable que el espectro del ruido mostrado en la Figura 5-3 presenta una amplia región continua de ruido de baja frecuencia. Este ruido tiene las propiedades del ruido de parpadeo pero su origen es desconocido. Superpuestos al ruido de parpadeo existen picos de ruido que corresponden a la fluctuación de temperatura anual y diaria y a otros fenómenos periódicos relacionados con el mantenimiento del edificio de un laboratorio.

Por último, en la Figura 5-3 se indican dos regiones de frecuencia silenciosas en las cuales el ruido ambiental es bajo: la región que se extiende desde aproximadamente 3 Hz hasta casi 60 Hz y la región que va desde 1 kHz hasta aproximadamente 500 kHz, o sea, la frecuencia a la que se emiten las señales de radio en AM. En estas regiones, a menudo, las señales se convierten en frecuencias para reducir el ruido durante el procesamiento de la señal.

5C. AUMENTO DE LA RELACIÓN SEÑAL/RUIDO

Muchas de las medidas en un laboratorio sólo precisan un esfuerzo mínimo para mantener la relación señal/ruido en un nivel aceptable. Ejemplos de ello son las determinaciones de peso realizadas durante el proceso de una síntesis química o la comparación de color realizada en la determinación del contenido de cloro en el agua de una piscina. En ambos ejemplos, la señal es grande respecto al ruido y las exigencias de exactitud y precisión son mínimas. Sin embargo, cuando aumentan las exigencias de sensibilidad y exactitud, la relación señal/ruido es, a menudo, un factor limitante en la precisión de una medida.

Figura 5-3. Algunas fuentes de ruidos ambientales de un laboratorio universitario. Obsérvese la dependencia entre la frecuencia y las regiones en las que se presentan diversos tipos de interferencias. (Adaptado de T. Coor, J. Chem. Educ., 1968, 45, A540. Con autorización.)



Existen métodos de hardware y software para mejorar la relación señal/ruido de un método instrumental. La reducción de ruido por medio del hardware se realiza incorporando al diseño del instrumento componentes tales como filtros, cortadores, escudos, moduladores y detectores sincrónicos. Estos dispositivos eliminan o atenúan el ruido sin afectar de manera significativa a la señal analítica. Los métodos de software utilizan distintos algoritmos de ordenador que permiten extraer las señales de entornos ruidosos. Como mínimo, los métodos de software necesitan suficiente hardware para acondicionar la señal de salida del instrumento y transformarla de analógica a digital. Normalmente los datos se recogen por medio de un ordenador dotado de un módulo de adquisición de datos como el que se describió en el Capítulo 4. Una vez recogidas, las señales se pueden extraer del entorno con ruido utilizando el ordenador con adquisición de datos o bien cualquier otro que esté conectado a través de una red.

5C-1. Algunos dispositivos de hardware para la reducción del ruido

Este apartado contiene una breve explicación de algunos dispositivos de hardware y de las técnicas usadas para aumentar la relación señal/ruido.

Conexión a tierra y blindaje

El ruido procedente de una radiación electromagnética generada ambientalmente se puede, a menudo, reducir bastante mediante blindaje, conexión a tierra y minimización de la longitud de los conduc-

tores del sistema instrumental. El blindaje consiste en proteger a un circuito, o a algunos de sus hilos más delicados, con un material conductor que se conecta a tierra. La radiación electromagnética la absorbe el blindaje antes que los conductores protegidos. De esta forma se minimiza la captación de ruido y su posible amplificación por el circuito del instrumento. Es necesario comentar que las técnicas para reducir el ruido son, a menudo, más arte que ciencia, especialmente en instrumentos que contienen circuitos tanto analógicos como digitales. Normalmente la configuración óptima sólo se encuentra después de un largo proceso de ensayo y error. Un punto de partida útil para este estudio se encuentra en las guías indicadas en las referencias⁴.

El blindaje es especialmente importante cuando se amplifica la salida de un transductor de elevada impedancia, tal como el electrodo de vidrio. En este caso, incluso minúsculas corrientes inducidas aleatorias dan lugar a fluctuaciones de tensión relativamente grandes en la señal medida.

Amplificadores diferenciales e instrumentales

Cualquier ruido generado en el circuito del transductor es especialmente crítico, ya que suele aparecer amplificado en la lectura del dispositivo. Para atenuar este tipo de ruido, la mayoría de los instru-

⁴ Una excelente explicación sobre conexión a tierra y blindaje puede verse en H. V. Malmstad, C. G. Enke y S. R. Crouch, *Microcomputers and Electronic Instrumentation: Making the Right Connections*, págs. 401-409. Washington D.C.: American Chemical Society, 1994. Una referencia antigua pero muy útil es R. Morrison, *Grounding and Shielding Techniques in Instrumentation*. New York: Wiley-Interscience, 1967.

mentos utilizan para la primera etapa de amplificación un amplificador diferencial, como el que se muestra en la Figura 3-11. El ruido de modo común inducido en el circuito del transductor aparece, por lo general, en fase con las terminales inversoras y con las no inversoras y se resta en gran parte por el circuito de forma que a la salida su valor se ha reducido considerablemente. En los casos en los que un amplificador diferencial resulta insuficiente, se utiliza un *amplificador instrumental* como el que se muestra en la Figura 5-4.

Los amplificadores instrumentales se componen de tres amplificadores operacionales configurados tal como se muestra en la Figura 5-4. El op amp *A* y el op amp *B* constituyen la etapa de entrada del amplificador instrumental en la cual los dos op amp están conectados en paralelo a través de las resistencias R_1 , R_1/a y R_1 . La segunda etapa del módulo es el amplificador diferencial del op amp *C*. No se deducirá la función de transferencia del amplificador instrumental, pero basta con decir que la ganancia total del circuito viene dada por

$$v_o = K(2a + 1)(v_2 - v_1) \quad (5-6)$$

La Ecuación 5-6 adelanta dos ventajas de los amplificadores instrumentales: (1) la ganancia total del amplificador puede controlarse por medio de una sola resistencia, R_1/a y (2) la segunda etapa diferencial rechaza señales de modo común. Además, los op amp *A* y *B* son seguidores de tensión con impedancias de entrada muy elevadas, por lo que el amplificador representa una carga despreciable para el circuito del transductor. La combinación de las dos etapas puede proporcionar un rechazo del ruido de modo común del orden de 10^6 o superior, además de amplificar la señal por 1.000.

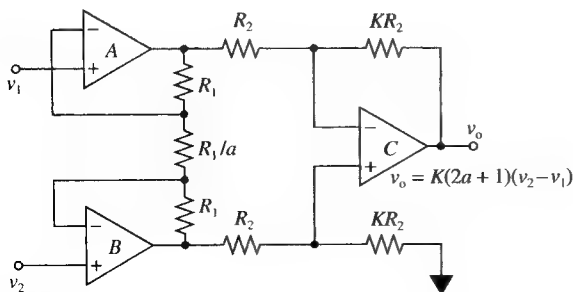


Figura 5-4. Un amplificador instrumental para la reducción de los efectos del ruido común a las dos entradas. La ganancia del circuito está controlada por las resistencias R_1/a y KR_2 .

Normalmente estos dispositivos se utilizan con señales de nivel bajo inmersas en ambientes ruidosos, como puede ser la medida de señales en organismos biológicos en los que el organismo actúa a modo de antena. La instrumentación para electrocardiografía aprovecha las ventajas de los amplificadores instrumentales. Existen otras aplicaciones características en módulos de adquisición de datos de ordenadores, como el amplificador de ganancia programable que se muestra en la Figura 4-13. La ganancia del amplificador instrumental se controla por medio de un ordenador, el cual varía la resistencia R_1/a de la Figura 5-4 utilizando conmutadores de estado sólido controlados digitalmente.

Filtrado analógico

Uno de los métodos más habituales de mejorar la relación señal/ruido en los instrumentos analíticos consiste en utilizar filtros analógicos de paso bajo como el indicado en la Figura 2-11b. La razón de su amplia aplicación radica en que muchas de las señales instrumentales son de baja frecuencia, con anchuras de banda de sólo pocos hercios. Así, un filtro de paso bajo definido por un diagrama de Bode como el de la Figura 2-12b eliminará con eficacia gran parte de los componentes de alta frecuencia de la señal, incluyendo aquellos que provienen del ruido térmico o del de disparo. La Figura 5-5 ilustra el uso de un filtro *RC* de paso bajo para reducir el ruido procedente de una señal de corriente continua que varía lentamente.

Los filtros analógicos de paso alto como el de la Figura 2-11a también se utilizan muchas veces en instrumentos analíticos en los que la señal del analito es de relativa alta frecuencia. En este caso, el filtro reduce el efecto de deriva y el del ruido de parpadeo de baja frecuencia.

También existen filtros electrónicos de paso banda estrecho para atenuar el ruido fuera de una banda determinada de frecuencias. Ya se ha señalado que la magnitud del ruido fundamental es directamente proporcional a la raíz cuadrada del ancho de banda de la frecuencia de una señal. Por tanto, se puede conseguir una considerable reducción del ruido si se restringe la señal de entrada a una banda estrecha de frecuencias y se emplea un amplificador que esté sintonizado con esta banda. Es importante tener en cuenta que la banda del filtro debe ser lo suficientemente ancha como para dejar pasar todas las frecuencias que presente la señal.

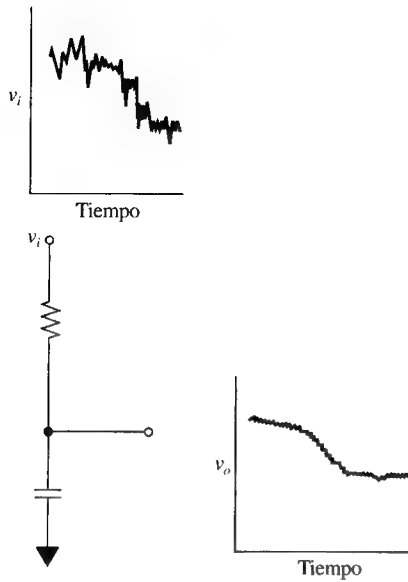


Figura 5-5. Utilización de un filtro de paso bajo con una constante de tiempo grande para eliminar el ruido de una tensión de corriente continua que varía lentamente.

Modulación

La amplificación directa de una señal de corriente continua de baja frecuencia resulta muy difícil debido a la deriva del amplificador y al ruido de parpadeo. Este ruido $1/f$ suele ser varias veces mayor que los tipos de ruido que predominan a frecuencias altas como se indica en el espectro de potencia del ruido de la Figura 5-3. Por esta razón, las señales de corriente continua o de baja frecuencia de los transductores se transforman en frecuencias más

altas, en las que el ruido $1/f$ es menos problemático. Este proceso se denomina *modulación*. Después de la amplificación, la señal modulada puede liberarse del ruido $1/f$ del amplificador filtrándola con un filtro de paso alto; la *desmodulación* y el filtrado con un filtro de paso bajo produce una señal amplificada de corriente continua adecuada para la salida.

La Figura 5-6 corresponde a un esquema en el que se muestra el flujo de la información a través de un sistema de este tipo. La corriente continua original que se muestra en el espectro de potencia *A* se modula para obtener una señal de paso de banda de 400 Hz, la cual se amplifica después por un factor de 10^5 . Como se muestra en el espectro de potencia *B* del centro de la figura, la amplificación introduce ruido $1/f$ y ruido de la línea eléctrica. La mayor parte de este ruido se puede eliminar con la ayuda de un filtro adecuado de paso alto como el de la Figura 2-11a. La desmodulación de esta señal filtrada produce la señal amplificada de corriente continua cuyo espectro de potencia se muestra en *C*.

Corte de la señal. Amplificadores de corte

El amplificador de corte proporciona un medio para obtener el flujo de la señal que se muestra en la Figura 5-6. En este dispositivo, la señal de entrada se convierte en una onda de forma cuadrada mediante un cortador electrónico o mecánico. El corte de la señal se puede realizar tanto en la cantidad física a medir, como en la señal eléctrica procedente del transductor. En general, es preferible cortar la señal lo más cerca posible de su fuente, ya que el proceso sólo elimina el ruido que surge después del corte.

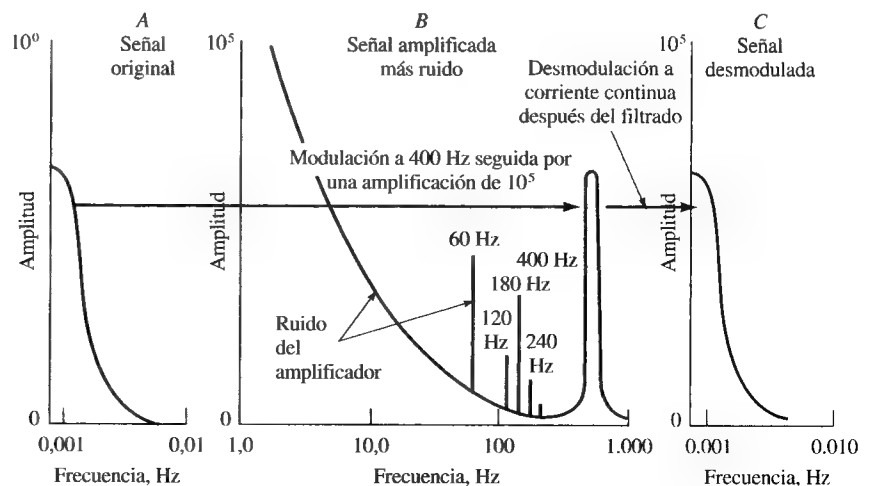


Figura 5-6. Amplificación de una señal de corriente continua con un amplificador de corte. (Adaptado de T. Coor, J. Chem. Educ. 1968, 45, A540. Con autorización.)

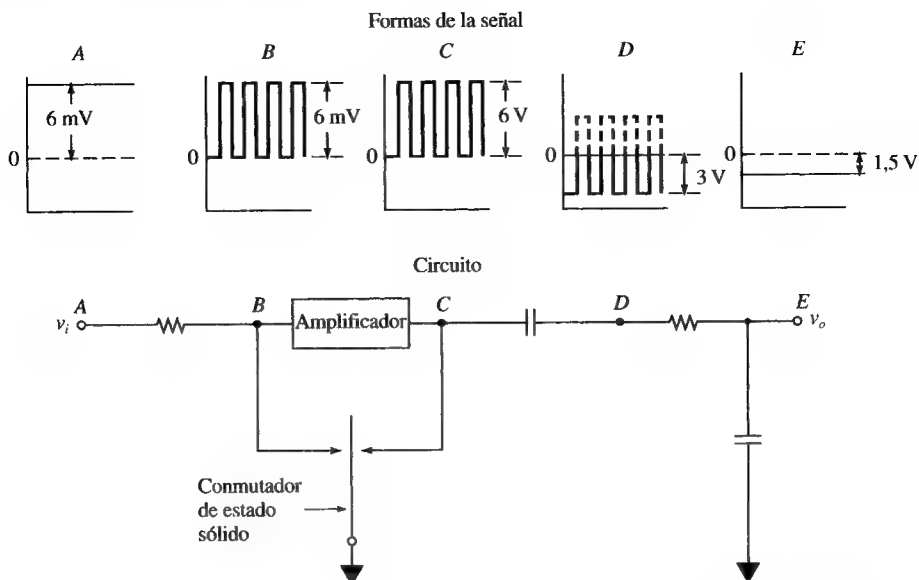


Figura 5-7. Amplificador de corte. Las formas de la señal son ondas idealizadas en los distintos puntos del circuito indicados.

La espectroscopia de absorción atómica constituye un ejemplo de utilización de un cortador mecánico para la modulación de la señal. El ruido constituye un grave problema en la detección y medida de las señales de las fuentes de absorción atómica de las fluctuaciones de baja frecuencia inherentes a las llamas u otros dispositivos de atomización. Para minimizar estos problemas de ruido, las fuentes de luz de los instrumentos de absorción atómica se cortan, a menudo, colocando un disco giratorio ranurado interpuesto en la trayectoria del haz como se muestra en la Figura 9-13b. El giro del cortador produce una señal radiante que fluctúa periódicamente entre cero y una intensidad máxima. Después de la interacción con la muestra en la llama, el transductor la convierte en una señal eléctrica de corriente alterna de onda cuadrada cuya frecuencia depende del tamaño de las ranuras y de la velocidad de rotación del disco. El ruido inherente a las llamas y a otros dispositivos de atomización es normalmente de baja frecuencia y se puede disminuir de forma significativa colocando un filtro de paso alto antes de la amplificación de la señal eléctrica transformada.

Otro ejemplo de utilización de un cortador se muestra en el esquema de modulación y desmodulación sincrónica de la Figura 5-7. Este dispositivo es un amplificador de corte, que emplea un conmutador electrónico que cortocircuita alternativamente las señales de entrada y salida del amplificador a

tierra. El aspecto de esta señal en las diversas etapas se muestra encima del diagrama del circuito. En este ejemplo la señal de entrada al transductor es una señal de corriente continua de 6 mV (A). El conmutador vibratorio convierte la entrada en una señal de onda cuadrada con una amplitud de 6 mV (B). La amplificación por un factor de 1.000 produce una onda cuadrada con una amplitud de 6 V (C), la cual, sin embargo, se cortocircuita a tierra periódicamente; como se muestra en (D), este cortocircuito reduce también la amplitud de la señal a 3 V. Por último, el filtro RC sirve para suavizar la señal y producir una salida de corriente continua de 1,5 V. El proceso de desmodulación sincrónico tiene como misión eliminar el ruido originado dentro del amplificador.

Amplificadores de cierre⁵

Los amplificadores de cierre permiten la recuperación de señales aun cuando la relación señal/ruido sea unitaria o menor. Por lo general, un amplificador de cierre requiere una señal de referencia que tenga la misma frecuencia y fase que la señal que se amplifica. Esto es, la señal de referencia debe ser de la misma frecuencia que la señal analítica y, además, debe tener una relación de fase fija respecto a la señal analítica. La Figura 5-8a muestra un

⁵ Véase T. C. O'Haver, *J. Chem. Educ.*, **1972**, *49*, A131, A211.

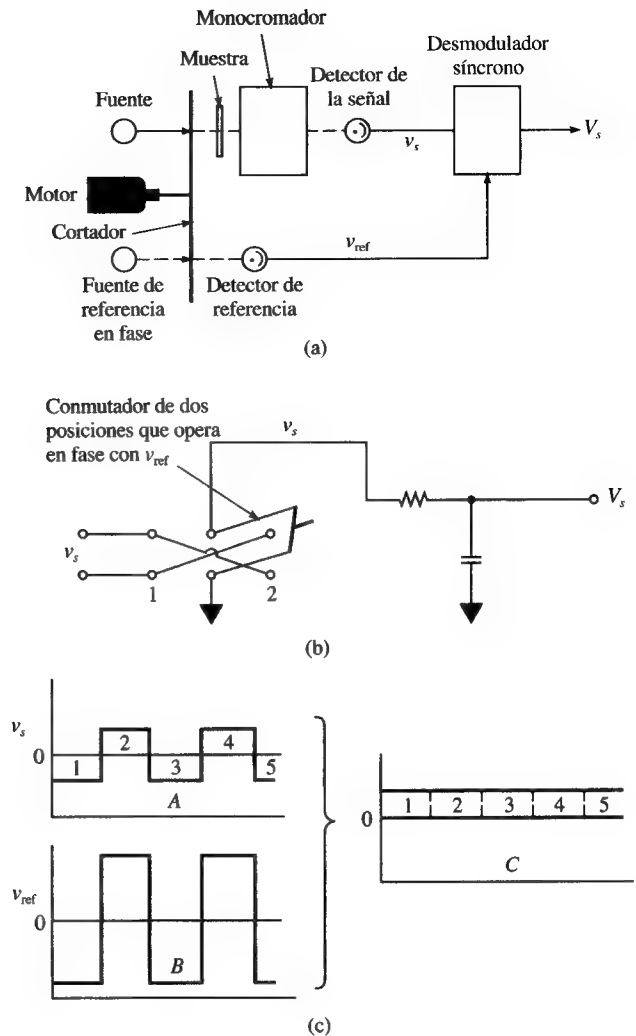


Figura 5-8. Un sistema amplificador de cierre: (a) sistema para un espectrofotómetro; (b) desmodulación sincrónica (esquema); (c) forma de la señal.

sistema que utiliza un cortador óptico que proporciona señales analíticas coherentes y señales de referencia. Una lámpara produce la señal de referencia que puede ser bastante intensa, lo cual la libera de posibles fuentes de ruido ambiental. Los haces de referencia y de la señal se cortan de forma sincrónica por medio de un disco giratorio con ranuras, proporcionando señales que son de idéntica frecuencia y que tienen un ángulo de fase fijo una respecto a otra.

El desmodulador sincrónico actúa de forma análoga a la del conmutador bipolar de doble posición de la Figura 5-8b⁶. En este caso, la señal de

referencia controla la conmutación, de modo que la polaridad de la señal analítica se invierte de manera periódica para proporcionar una señal rectificada de corriente continua como la de la parte derecha de la Figura 5-8c. Cualquier ruido de alta frecuencia se elimina con un sistema de filtrado de paso bajo.

En general, un amplificador de cierre está relativamente exento de ruido, debido a que sólo se amplifican aquellas señales que están sincronizadas con la señal de referencia. El sistema rechaza todas las demás frecuencias.

5C-2. Métodos de software

Dada la amplia disponibilidad de microprocesadores y microordenadores, muchos de los dispositi-

⁶ En un desmodulador moderno, los conmutadores no serían mecánicos (como los de la figura) sino electrónicos, ya que éstos son más rápidos y menos ruidosos.

vos encargados de mejorar la relación señal/ruido, descritos en el apartado anterior, están siendo sustituidos o complementados por programas de ordenador. Entre estos programas existen rutinas para diversos tipos de promediado, filtrado digital, transformación de Fourier, suavizado y técnicas de correlación. Estos procedimientos se pueden aplicar a formas de onda no periódicas o irregulares, como un espectro de absorción, o a señales sin onda de sincronismo o de referencia, así como a las ondas periódicas. Algunos de los procedimientos más comunes se explican brevemente a continuación.

Promediado conjunto⁷

En el promediado conjunto, sucesivas series de datos almacenados en memoria como *matrices* se recogen y se suman punto por punto o en una serie de condensadores para el promediado mediante hardware. Este proceso a menudo se denomina *coadición*. Después de terminar la recogida y la suma, los datos se promedian dividiendo la suma para cada punto por el número de barridos realizados. La Figura 5-9 ilustra el promediado conjunto de un espectro de absorción.

Para comprender por qué el promediado conjunto aumenta de forma eficaz la relación señal/ruido de las señales obtenidas digitalmente, supóngase que se trata de medir la magnitud de una señal de corriente continua S . Se realizan n medidas repetidas de S y se calcula el valor medio de la señal mediante la ecuación

$$S_x = \frac{\sum_{i=1}^n S_i}{n} \quad (5-7)$$

donde S_i , $i = 1, 2, 3 \dots n$ son las medidas individuales de la señal, incluyendo el ruido. En cada medida el ruido es, por tanto, $S_x - S_i$. Si se elevan al cuadrado y se suman las desviaciones de la señal con respecto de la media, S_x , y se divide entre el número de medidas n , se obtiene el *ruido cuadrático medio* que viene dado por

$$\text{ruido cuadrático medio} = \frac{\sum_{i=1}^n (S_x - S_i)^2}{n} \quad (5-8)$$

⁷ Para una descripción más extensa de los distintos tipos de promediado de señales, véase D. Binkley y R. Dessy, *J. Chem. Educ.*, **1979**, 56, 148; R. L. Rowell, *J. Chem. Educ.*, **1978**, 55, 148; G. Dulaney, *Anal. Chem.*, **1975**, 47, 24A.

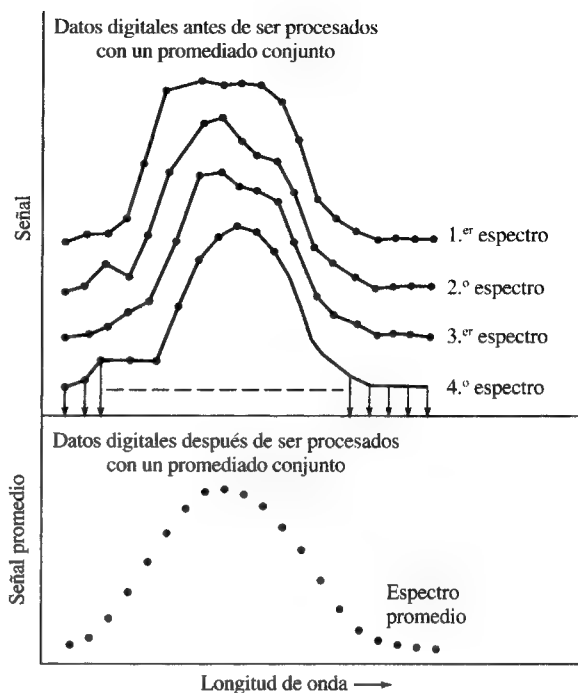


Figura 5-9. Promediado conjunto de un espectro. (De D. Binkley y R. Dessy, *J. Chem. Educ.*, **1979**, 6, 150. Con autorización.)

El ruido cuadrático medio se denomina normalmente *varianza* de la señal, y el ruido eficaz, o rms, es su desviación estándar, la cual viene dada por

$$\text{ruido eficaz} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (S_x - S_i)^2}{n}} \quad (5-9)$$

La relación señal/ruido para la medida es el valor medio de la señal dividido por su desviación estándar, o

$$\frac{S}{R} = \frac{S_x}{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (S_x - S_i)^2}{n}}} \quad (5-10)$$

Si se multiplica el numerador y el denominador por n se obtiene

$$\begin{aligned}\frac{S}{R} &= \frac{nS_x}{\frac{n}{\sqrt{n}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (S_x - S_i)^2}{n}}} \\ &= \sqrt{n} \frac{S_x}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (S_x - S_i)^2}}\end{aligned}\quad (5-11)$$

La última expresión muestra que la relación señal/ruido es proporcional a la raíz cuadrada del número de datos recogidos para determinar el promediado conjunto. Obsérvese que este mismo aumento de la relación señal/ruido se da en el promediado por grupos y en el filtrado digital; ambos se describen en los siguientes apartados.

La mejora en la relación S/R obtenida mediante el promediado de la señal se utiliza en diversas áreas de la ciencia; dos de los ejemplos más importantes en instrumentación química son la espectroscopia de resonancia magnética nuclear y la espectroscopia en el infrarrojo de transformada de Fourier. Se considerará con más detalle en los capítulos de estos temas el promediado de señales y otros aspectos de adquisición de datos.

Para valorar las ventajas del promediado conjunto y obtener además toda la información que existe en la forma de la onda de una señal, es necesario medir puntos a una frecuencia que, al menos, sea dos veces superior a la componente de más alta frecuencia de la onda. Esta afirmación es una consecuencia del *teorema del muestreo de Nyquist*, el cual enuncia que para señales con un ancho de banda limitado, el muestreo debe realizarse a una frecuencia que sea de al menos dos veces la frecuencia más alta f de la señal estudiada. Esto es, la frecuencia de la adquisición de datos debe ser de al menos $2f = 1/(2\Delta t)$, donde Δt es el intervalo de tiempo entre dos muestras de la señal. Por ejemplo, si el componente de frecuencia máxima de una señal instrumental es de 150 Hz, los datos se deben muestrear a una velocidad al menos de 300 muestras si se desea determinar la señal con exactitud.

Frecuencias de muestreo mucho mayores que la frecuencia de Nyquist no proporcionan mucha más información adicional, y pueden incluso introducir ruido no deseado. Sin embargo es costumbre muestrear a una frecuencia de aproximadamente diez veces la frecuencia de Nyquist para asegurar la integridad de la señal. Además, es muy impor-

tante muestrear de manera reproducible el perfil ondulatorio, esto es, se debe empezar a muestrear cada vez en el mismo punto en cada una de las ondas sucesivas. Por ejemplo, si la forma de la onda es un espectro de absorción en el visible, cada barrido del espectro debe sincronizarse para empezar exactamente a la misma longitud de onda, y la velocidad de variación de la longitud de onda debe ser idéntica para cada barrido. Por lo general, la sincronización se realiza por medio de un impulso sincronizado, que se obtiene de la propia forma de la onda o del suceso experimental que produjo dicha forma de onda como un impulso láser o como un impulso de radiación de radiofrecuencia. Este impulso inicia la adquisición de datos para cada barrido de la forma ondulatoria.

El promediado conjunto puede mejorar en gran medida las relaciones señal/ruido como se demuestra en los tres espectros de RMN de la Figura 5-10. En este caso, en un barrido sencillo sólo se perciben unos pocos picos de absorción, porque sus magnitudes son aproximadamente iguales que las variaciones del registrador debidas al ruido aleatorio. La mejora en el espectro resultante como consecuencia del promediado de la señal se ve claramente en la Figura 5-10. En el Capítulo 19 aparece un estudio más detallado del teorema de muestreo de Nyquist y sus consecuencias en el tratamiento de la transformada de Fourier para la espectroscopia de resonancia magnética nuclear.

Promediado por grupos

El promediado por grupos (*boxcar averaging*) es un procedimiento digital para suavizar irregularidades y para aumentar la relación señal/ruido de una forma ondulatoria, suponiendo que estas irregularidades son consecuencia del ruido. Esto es, se supone que la señal analítica analógica varía sólo lentamente con el tiempo y que el promedio de un número pequeño de puntos adyacentes es una medida mejor de la señal que cualquiera de los puntos individuales. La Figura 5-11b ilustra el efecto de la técnica en los datos representados en la Figura 5-11a. El primer punto de la gráfica por grupos es la media de los puntos 1, 2 y 3 de la curva original; el punto 2 es el promedio de los puntos 4, 5 y 6 y así sucesivamente. En la práctica se promedian de 2 a 50 puntos para proporcionar un punto definitivo. Con mucha frecuencia, este promediado se realiza con un ordenador en tiempo real, o sea, a medida que los datos se van recogiendo (al contra-

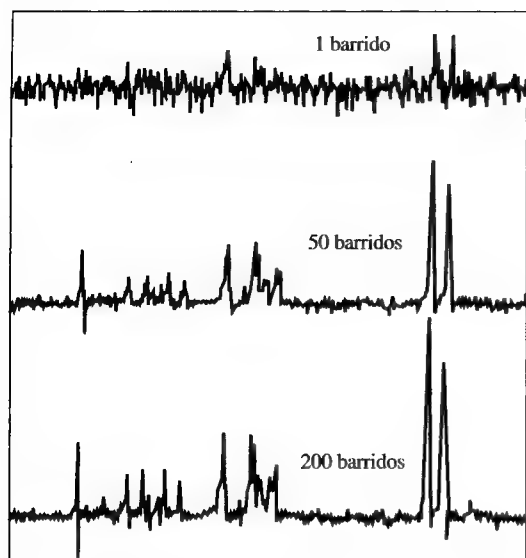


Figura 5-10. Efecto del promediado de la señal. Obsérvese que la escala vertical es más pequeña a medida que aumenta el número de barridos. La relación señal/ruido es proporcional a $\sqrt{n}$. Las fluctuaciones aleatorias del ruido tienden a eliminarse a medida que aumenta el número de barridos, pero la señal se acumula; por tanto, S/R aumenta.

rio que en el promediado conjunto, que requiere un almacenamiento de los datos para el procesado posterior). En el promediado por grupos se pierde detalle, como se aprecia en la Figura 5-11 y su utilidad se limita a señales complejas que cambian rápidamente en función del tiempo. Sin embargo, es de considerable utilidad para señales de salida de onda cuadrada o de impulsos repetitivos en las que sólo interesa la amplitud de los promedios.

También se puede realizar el promediado por grupos en el dominio analógico por medio del *integrador por grupos*. Este dispositivo utiliza un conmutador digital rápido para muestrear una forma de onda repetitiva a un intervalo de tiempo programable desde el origen de la onda. La onda muestreada se conecta a un integrador analógico para obtener una versión de la onda en baja frecuencia en un intervalo de tiempo seleccionado. El instrumento se programa para hacer el barrido de una señal con forma de onda con mucho ruido desde su comienzo hasta el final. De esta forma se obtiene un perfil de la señal con una relación señal/ruido que es seleccionable ajustando la constante de tiempo del integrador, la velocidad de barrido de la ventana de muestreo y la ventana de tiempo en la que se realiza el muestreo. Esta ventana se denomina *tiempo de apertura*.

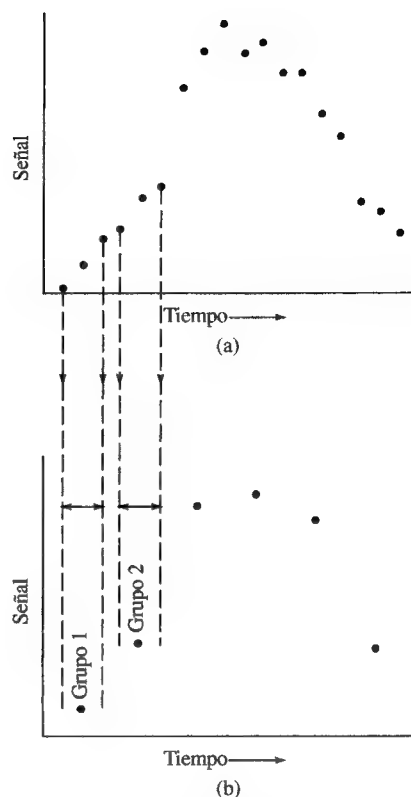


Figura 5-11. Efecto del promediado por grupos. (a) Datos originales. (b) Datos después del promediado por grupos. (Reimpreso con autorización de G. Dulaney, *Anal. Chem.*, 1975, 47, 28A. Derechos de reproducción desde 1975 American Chemical Society.)

Los integradores por grupos se utilizan frecuentemente para muestrear y medir formas de onda instrumentales en escalas de tiempo entre picosegundos y microsegundos. Estos integradores son particularmente útiles en conexión con sistemas de impulsos de láser en los que los acontecimientos físicos y químicos suceden en tiempos muy cortos. La salida del integrador puede conectarse a sistemas de adquisición de datos de ordenadores como los que se describieron en el Apartado 4E-4 para la explotación de datos y el subsiguiente análisis posexperimental y presentación. La ventaja de la adquisición de señales en términos de integración por grupos radica en que el tiempo de promediado de las unidades puede incrementarse para proporcionar un aumento de la relación señal/ruido. Esta relación es proporcional a la raíz cuadrada de la cantidad de tiempo que necesita el integrador para obtener la señal en cada ventana de tiempo de la forma ondulatoria. Esta mejora es equivalente al

aumento obtenido en la adquisición digital de datos mediante promediado conjunto.

Filtrado digital

El filtrado digital se puede realizar por distintos procedimientos numéricos bien definidos, tales como el promediado conjunto que se estudió en el apartado anterior, la transformación de Fourier, el suavizado polinomial por mínimos cuadrados y la correlación. En este apartado se comentará brevemente el procedimiento de transformación de Fourier y el suavizado polinomial por mínimos cuadrados, que es una de las técnicas más frecuentes de tratamiento numérico de datos.

En la transformación de Fourier, una señal como la que se muestra en la Figura 5-12a, que se obtiene en el dominio del tiempo, se convierte en una señal del dominio de la frecuencia en la que la variable independiente es más la variable frecuencia f que la variable tiempo, tal como se representa en la Figura 5-12b. Esta transformación, que se estudia con más detalle en el Apartado 7I, se realiza matemáticamente en un ordenador por medio de un algoritmo muy rápido y eficaz. La señal en el do-

minio de la frecuencia en b se multiplica por la respuesta en frecuencia de un filtro digital de paso bajo con una frecuencia de corte superior f_0 como se muestra en c, lo cual permite eliminar todos los componentes con frecuencias superiores a f_0 como se ilustra en d. Una vez llegado este punto, la transformación inversa de Fourier recupera el espectro filtrado en el dominio del tiempo de la Figura 5-12e. La transformada de Fourier se utiliza en los espectrómetros en el infrarrojo y RMN más modernos, así como en ciertos prototipos de instrumentos de laboratorio y en osciloscopios digitales. El procedimiento se diseña para paquetes de software tales como Mathcad® y Excell® y se encuentra en paquetes de subrutinas en diversos lenguajes de ordenador.

La última técnica de tratamiento digital de datos que se estudiará y tal vez la más utilizada es el suavizado polinomial de datos por mínimos cuadrados. El suavizado es en esencia bastante parecido al esquema de promediado por grupos de la Figura 5-11. En la Figura 5-13 se muestra cómo se realiza el suavizado de datos sin ponderación. Los 11 puntos de los datos que se representan por puntos rellenos en la representación gráfica correspon-

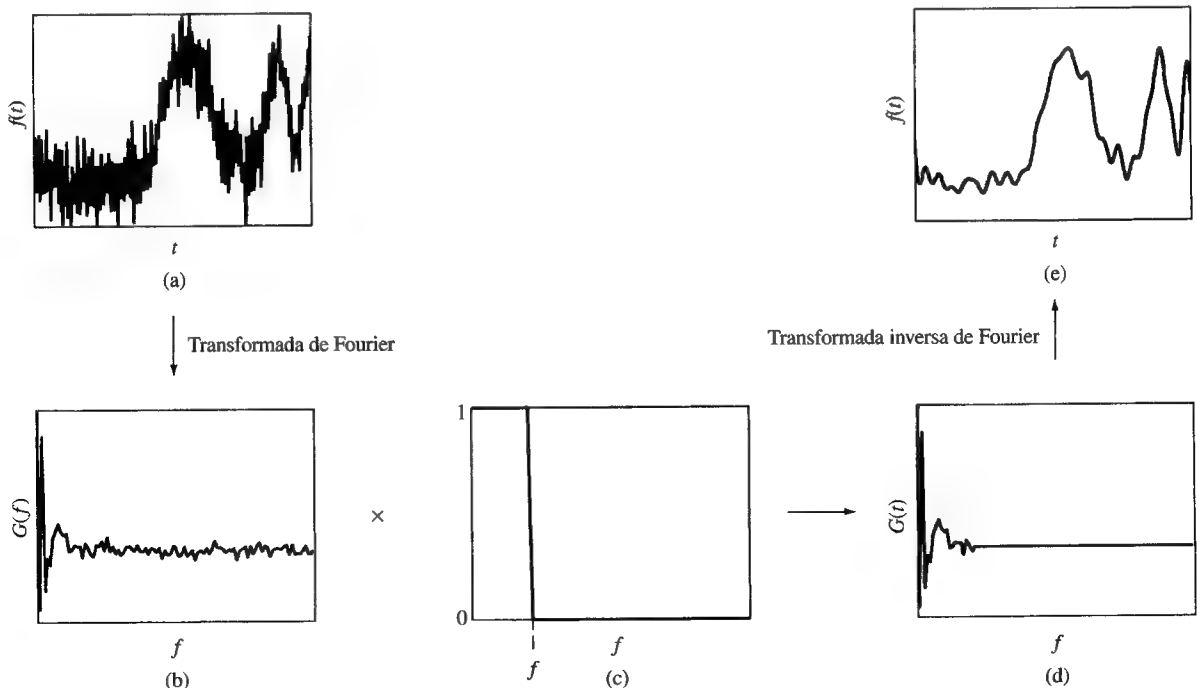


Figura 5-12. Filtrado digital con transformada de Fourier. (a) Pico espectral con ruidos, (b) el espectro en el dominio del tiempo como resultado de la transformación de Fourier, (c) función de filtro digital de paso bajo, (d) producto de (b) por (c), (e) transformada inversa de Fourier de (d) con la mayoría del ruido de alta frecuencia eliminado.

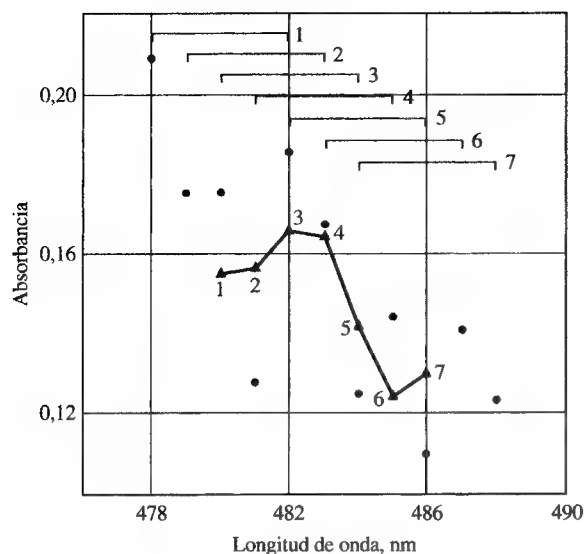


Figura 5-13. La operación de una función de suavizado sin ponderación de promediado de ventana móvil: datos espectrales con ruido (●), datos suavizados (▲). Véase el texto para la descripción del procedimiento de suavizado.

den a una sección de un espectro de absorción inmerso en un ambiente ruidoso. Los cinco primeros datos abarcados por el paréntesis 1 de la figura son promediados y representados en el punto del dato 3, o triángulo 1. El paréntesis se mueve entonces un punto hacia la derecha hasta el punto 2, se promedian los puntos del 2 al 6 y el valor promedio se representa con el triángulo 2. El proceso se repite para los paréntesis 3, 4, 5 y así sucesivamente hasta que se promedian todos los puntos excepto los dos últimos y de esta manera se obtiene una nueva curva de absorción representada por los puntos triangulares y la línea que los une. La nueva curva presenta, de alguna forma, menos ruido que la de los datos originales. Este procedimiento se llama suavizado sin ponderación de 5 puntos. En este tipo de incremento de la relación señal/ruido, la anchura de la función de suavizado siempre presenta números impares de puntos, y quedan sin suavizar un número par de puntos al final de cada grupo de datos. El número de puntos sin suavizar es igual a $(n - 1)/2$ donde n es la anchura de suavizado. En un espectro de absorción que dispone de cientos, o tal vez miles de datos, la pérdida de estos datos es normalmente insignificante.

La relación señal/ruido puede ser incrementada ampliando la anchura de la función de suavizado o bien suavizando los datos varias veces. Desafortu-

nadamente, el suavizado básico sin ponderación da excesiva importancia a los puntos que se alejan mucho del punto central. Un procedimiento mucho mejor que el simple promediado de puntos en los datos de una curva es realizar un ajuste por mínimos cuadrados mediante un polinomio en una parte pequeña de la curva y tomar el punto central calculado de la curva polinomial ajustado como nuevo punto de datos suavizados. Esta aproximación es mucho mejor que la del promediado sin ponderación, pero tiene el inconveniente de ser más complicada desde el punto de vista de cálculo y, por tanto, requiere un tiempo de cálculo muy elevado. Savitzky y Golay demostraron que un conjunto de números enteros podían ser derivados y utilizados como coeficientes de ponderación para llevar a cabo la operación de suavizado⁸. El uso de estos coeficientes de ponderación, a veces denominados *enteros de convolución*, resulta ser *exactamente equivalente* al ajuste polinomial de datos que se acaba de describir. En la Figura 5-14a se representan gráficamente los enteros de convolución para una función de suavizado cuadrática de cinco puntos.

La aplicación de los enteros de suavizado de la Figura 5-14a a los datos de la Figura 5-13, ilustra el proceso de suavizado. Se comienza multiplicando el entero de convolución situado más a la izquierda, que en este caso es el -3, por la absorbancia en el punto 1 de la Figura 5-13. El segundo entero, que es el 12, se multiplica por el segundo punto, y el resultado se añade al producto obtenido para el primer punto. Después se multiplica el punto 3 por 17, que es el tercer entero, y el resultando se vuelve a sumar. Se repite el proceso hasta que cada uno de los cinco datos se haya multiplicado por su entero correspondiente y se haya obtenido la suma de los cinco resultados. Por último, la suma de los resultados se divide entre un sexto entero, denominado *entero de normalización*, cuyo valor es de 35 para este ejemplo de suavizado cuadrático de 5 puntos, y el cociente se toma como el nuevo valor del punto central del intervalo de suavizado. El entero de normalización también se deduce del tratamiento de Savitzky-Golay como otros conjuntos de enteros para el suavizado para la generación de la primera y segunda derivada de los datos. En la Figura 5-14b se representa la primera derivada de los enteros de convolución para un suavizado cúbico

⁸ Véase A. Savitzky y M. J. E. Golay, *Anal. Chem.*, **1964**, *36*, 1627.

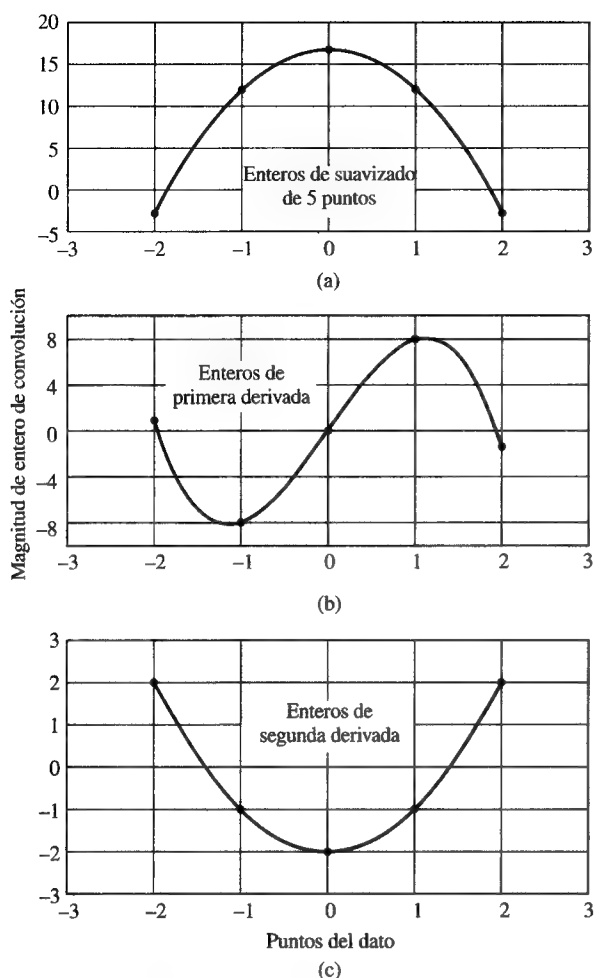


Figura 5-14. Enteros de convolución para el suavizado polinomial por mínimos cuadrados: (a) enteros para cuadrático de 5 puntos, (b) enteros para la primera derivada para cúbico de 5 puntos, (c) enteros para la segunda derivada para cuadrático de 5 puntos.

de cinco puntos, y se muestran en la Figura 5-14c la segunda derivada de los enteros para el suavizado cuadrático de 5 puntos. Este conjunto de enteros se puede utilizar de la misma forma que los enteros del suavizado básico para obtener la primera y la segunda derivada a partir de los datos de absorción originales. El suavizado polinomial derivado por mínimos cuadrados se utiliza para obtener espectros derivados dado que, como se vio en el estudio de diferenciadores analógicos en el Apartado 3E-4, la diferenciación conlleva, a menudo, un proceso de introducción de ruido. El suavizado derivativo minimiza el ruido generado en la diferenciación.

Es importante resaltar las ventajas e inconvenientes del método de suavizado polinomial por mínimos cuadrados, dada su extensa aplicación para mejorar la calidad de los datos analíticos. Este procedimiento reduce el ruido y actúa como un filtro de paso bajo para los datos. Como ocurre con cualquier proceso de filtrado, la señal sufre cierta distorsión, debido a la limitación del ancho de banda inherente al proceso. El usuario del suavizado debe ponderar la reducción del ruido con la posibilidad de distorsión de la señal. La ventaja del procedimiento es que las variables como el tipo de suavizado, la anchura de suavizado y el número de veces que se van a suavizar los datos se deciden después de la recogida de datos. Además, el algoritmo de suavizado es sencillo desde el punto de vista operacional y requiere un tiempo mínimo de cálculo. El incremento de la relación señal/ruido resultante del suavizado es relativamente bajo, y generalmente aumenta por un factor de cuatro en los espectros que contengan picos con una anchura de 32 puntos y con una anchura de suavizado del doble de este valor. Sin embargo, el suavizado produce una representación más limpia de los datos para su interpretación por parte del operador, y se utiliza mucho con este fin. Cuando se aplica el suavizado

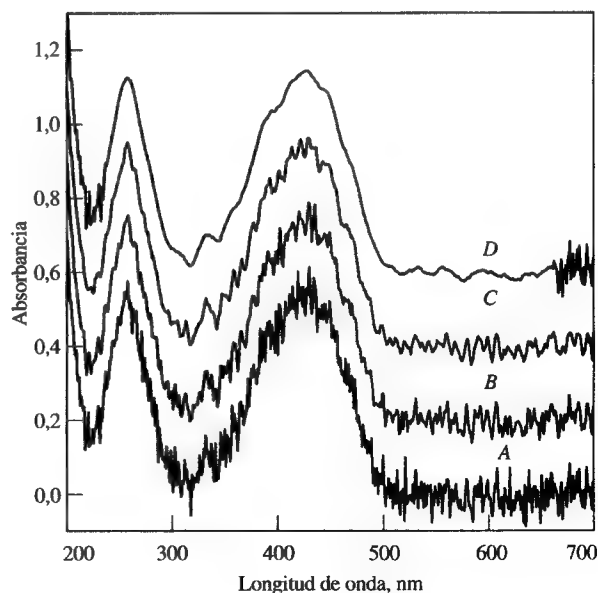


Figura 5-15. Efecto de suavizado de un espectro de absorción de tartrazina con ruido: (A) espectro sin depurar, (B) suavizado cuadrático de 5 puntos de los datos de (A), (C) suavizado de cuarto grado de 13 puntos de los mismos datos, (D) suavizado de décimo grado de 77 puntos de los datos.

al análisis cuantitativo, la distorsión de los datos tiene un efecto mínimo sobre los resultados cuantitativos, ya que los errores de distorsión tienden a anularse cuando las muestras y los patrones se suavizan de la misma forma.

Los datos de la Figura 5-15, de la página anterior, muestran la aplicación del suavizado polinomial por mínimos cuadrados para un espectro de absorción de tartrazina de 501 puntos inmerso en un ambiente bastante ruidoso que se muestra en la parte inferior de la figura, en la curva *A*. La curva *B* representa un suavizado cuadrático de 5 puntos de los datos, la curva *C* representa un suavizado de cuarto grado de 13 puntos y la curva *D* un suavizado de décimo grado de 77 puntos. Obsérvese que en la curva *D* quedan sin suavizar 38 puntos al final del conjunto de datos. El efecto del proceso de suavizado se hace patente progresivamente de la curva *A* a la *D*.

Dada la gran utilidad y la extensa aplicación del suavizado, se han desarrollado guías para su utilización, existen ecuaciones para calcular los coeficientes de suavizado y se ha aplicado el método a datos bidimensionales como los espectros obtenidos

con diodos en serie. Para más detalles de la naturaleza del proceso de suavizado y su implementación, véanse las referencias a pie de página⁹.

Métodos de correlación

Los métodos de correlación se aplican habitualmente al tratamiento de los datos de los instrumentos analíticos. Estos procedimientos constituyen potentes herramientas para la realización de cometidos tales como la extracción de señales que parecen estar irremediablemente perdidas dentro del ruido, suavizado de datos ruidosos, comparación del espectro de un analito con los espectros almacenados de los compuestos puros y resolución de picos solapados o no resueltos en espectroscopia y en cromatografía¹⁰. Los métodos de correlación realizan manipulaciones matemáticas complejas de los datos que sólo pueden realizarse con un ordenador o bien mediante instrumentación analógica sofisticada.

Los métodos de correlación no se explicarán en este texto. El lector interesado podrá consultar las referencias de la nota 10 al pie.

⁹ J. Steinier, Y. Termonia y J. Deltour, *Anal. Chem.*, **1972**, *44*, 1906; T. A. Nieman y C. G. Enke, *Anal. Chem.*, **1976**, *48*, 705A; H. H. Madden, *Anal. Chem.*, **1978**, *50*, 1383; K. L. Ratzlaff, *Introduction to Computer-Assisted Experimentation*. New York: Wiley, 1987.

¹⁰ Para una explicación más detallada de los métodos de correlación, véase G. Horlick y G. M. Hieftje en *Contemporary Topics in Analytical and Clinical Chemistry*, D. M. Hercules y col., Eds., Vol. 3, págs. 153-216. New York: Plenum Press, 1978. Para una explicación más breve, véase G. M. Hieftje y G. Horlick, *American Laboratory*, **1981**, *13*(3), 76.

5D. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 5-1. ¿Qué tipos de ruido dependen de la frecuencia? ¿Y cuáles son independientes de ella?
- 5-2. Indicar la clase o clases de ruido que se pueden reducir
 - (a) Disminuyendo la temperatura de una medida.
 - (b) Disminuyendo la frecuencia utilizada para la medida.
 - (c) Disminuyendo la anchura de banda de la medida.
- 5-3. Indicar un intervalo de frecuencias que sirva para minimizar el ruido. Explicarlo.
- 5-4. ¿Por qué es fundamental el blindaje en el diseño de los electrodos de vidrio que tienen una resistencia interna de 10^6 ohmios o más?
- 5-5. ¿Qué tipo de ruido es deseable que se reduzca con (a) un filtro de paso alto y (b) un filtro de paso bajo?
- 5-6. Hacer una estimación aproximada de la relación señal/ruido para la corriente de $0,9 \times 10^{-15}$ A de la Figura 5-1a.

- 5-7. En una balanza para pesadas repetidas de un peso patrón de 1,004 g se obtuvieron los siguientes datos:
- | | | |
|-------|-------|-------|
| 1,003 | 1,000 | 1,001 |
| 1,004 | 1,005 | 1,006 |
| 1,001 | 0,999 | 1,007 |
- (a) Calcular la relación cociente señal/ruido para la balanza, suponiendo que el ruido es aleatorio.
 (b) ¿Cuántas medidas se tendrían que promediar para obtener una S/R de 500?
- 5-8. Para una medida de tensión en un sistema ruidoso se obtuvieron los siguientes datos en mV: 1,37; 1,84; 1,35; 1,47; 1,10; 1,73; 1,54; 1,08.
 (a) ¿Cuál es la relación señal/ruido suponiendo que el ruido es aleatorio?
 (b) ¿Cuántas medidas se tendrían que promediar para obtener una S/R de 10?
- 5-9. Calcular el valor eficaz del ruido térmico asociado a una resistencia de carga de $1,0 \text{ M}\Omega$ que opera a temperatura ambiente, si se usa un osciloscopio con una anchura de banda de 1 MHz. Si la anchura de banda se reduce a 100 Hz, ¿por qué factor se verá reducido el ruido?
- 5-10. Si el espectro de la Figura 5-2a es el resultado de un único barrido y el de la Figura 5-2b el de un promediado conjunto, ¿cuántos espectros individuales se añadieron para aumentar S/R de 4,3 a 43?
- 5-11. Calcular el aumento en S/R al pasar del espectro superior al inferior de la Figura 5-10.
- 5-12. Calcular el aumento en S/R al pasar del espectro A al espectro D de la Figura 5-15.
- 5-13. Para un aumento óptimo en S/R , los datos espectrales deben ser suavizados con una anchura de suavizado no superior a dos veces el ancho de un pico espectral tomado a la mitad de su intensidad máxima. A partir de los datos de la Figura 5-15, determinar (a) la máxima anchura de suavizado para el pico del lado izquierdo del espectro y (b) para el pico del lado derecho.



Capítulo 6

Introducción a los métodos espectrométricos

Los métodos espectrométricos son un amplio grupo de métodos analíticos que se basan en las espectroscopias atómica y molecular. La espectroscopia es un término general para la ciencia que trata de las distintas interacciones de la radiación con la materia. Históricamente, las interacciones de interés se producían entre la radiación electromagnética y la materia, sin embargo, ahora el término espectroscopia se ha ampliado para incluir las interacciones entre la materia y otras formas de energía. Ejemplos de ello son las ondas acústicas y los haces de partículas como iones o electrones. La espectrometría y los métodos espectrométricos hacen referencia a la medida de la intensidad de la radiación mediante un detector fotoeléctrico o con otro tipo de dispositivo electrónico.

Los métodos espectrométricos más ampliamente utilizados son los relacionados con la radiación electromagnética, que es un tipo de energía que toma varias formas, de las cuales las más fácilmente reconocibles son la luz y el calor radiante. Sus manifestaciones más difícilmente reconocibles incluyen los rayos gamma y los rayos X, así como

las radiaciones ultravioleta, de microondas y de radiofrecuencia.

Este capítulo trata de una forma general las interacciones de las ondas electromagnéticas con las especies atómicas y moleculares. Tras esta introducción, los próximos cinco capítulos describen los distintos tipos de métodos espectrométricos utilizados por los químicos para la identificación y determinación de los elementos presentes de distintas formas en la materia. Los Capítulos 13 al 21 estudian después la utilización de la espectrometría para la determinación estructural de las especies moleculares y describen cómo se utilizan estos métodos para su determinación cuantitativa.

6A. PROPIEDADES GENERALES DE LA RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA

Muchas de las propiedades de la radiación electromagnética se explican adecuadamente con un modelo clásico de onda sinusoidal, que utiliza parámetros como la longitud de onda, la frecuencia, la velocidad y la amplitud. A diferencia de otros fe-

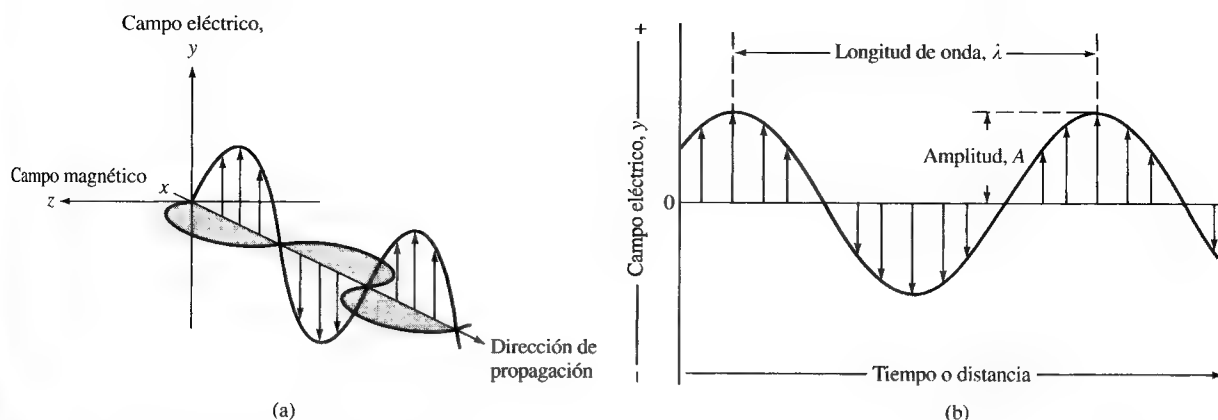


Figura 6-1. Representación de un haz de radiación monocromática, polarizada en el plano: (a) campos eléctrico y magnético perpendiculares entre sí y respecto a la dirección de propagación, (b) representación bidimensional del vector eléctrico.

nómenos ondulatorios, como el sonido, la radiación electromagnética no necesita un medio de apoyo para transmitirse y, por tanto, se propaga fácilmente a través del vacío.

El modelo ondulatorio falla al intentar explicar fenómenos asociados con la absorción o la emisión de energía radiante. Para comprender estos procesos, hay que acudir a un modelo corpuscular en el que la radiación electromagnética se contempla como un flujo de partículas discretas, o paquetes ondulatorios, de energía denominados *fonones*, en los que la energía de un fotón es proporcional a la frecuencia de la radiación. Este doble punto de vista de la radiación como partícula y como onda no es mutuamente excluyente, sino complementario. De hecho, la dualidad onda-corpúsculo se aplica al comportamiento de haces de electrones, protones y de otras partículas elementales, y se racionaliza completamente por medio de la mecánica ondulatoria.

6B. PROPIEDADES ONDULATORIAS DE LA RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA

Para muchos fines, la radiación electromagnética se representa como un campo eléctrico y otro magnético que están en fase, con oscilaciones sinusoidales en ángulo recto de uno respecto a otro y respecto a la dirección de propagación. La Figura 6-1a es una representación de este tipo para un rayo individual de una radiación electromagnética polarizada en el plano. *Polarizada en el plano* significa

que todas las oscilaciones tanto del campo eléctrico como del magnético están en un solo plano. La Figura 6-1b es una representación bidimensional de la componente eléctrica del rayo de la Figura 6-1a. En esta figura, el campo eléctrico se representa como un vector cuya longitud es proporcional a la fuerza del campo. La abscisa de esta representación gráfica puede ser el tiempo, cuando la radiación atraviesa un punto fijo del espacio, o la distancia, cuando el tiempo se mantiene constante. A lo largo de este capítulo y en la mayor parte del resto del texto, sólo se considerará la componente eléctrica de la radiación, ya que el campo eléctrico es el responsable de la mayoría de los fenómenos que interesan, como la transmisión, la reflexión, la refracción y la absorción. Sin embargo, cabe señalar que la componente magnética de la radiación electromagnética es la responsable de la absorción de las ondas de radiofrecuencia en la espectroscopia de resonancia magnética nuclear.

6B-1. Parámetros ondulatorios

En la Figura 6-1b, se muestra la *amplitud* A de una onda sinusoidal como la longitud del vector eléctrico en el máximo de la onda. El tiempo, en segundos, necesario para el paso de sucesivos máximos o mínimos por un punto fijo en el espacio se denomina *período* de la radiación, p . La *frecuencia*, ν , es el número de oscilaciones del campo por segundo¹ y

¹ La unidad habitual de frecuencia es la inversa del segundo (s^{-1}), o hertz (Hz), que corresponde a un ciclo por segundo.

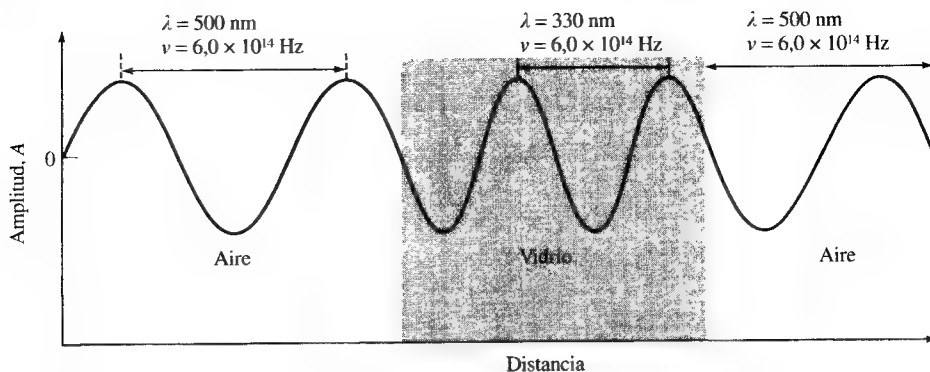


Figura 6-2. Efecto del cambio de medio en un haz de radiación monocromática.

es igual a $1/p$. Otro parámetro de interés es la *longitud de onda*, λ , que es la distancia lineal entre dos puntos equivalentes de ondas sucesivas (por ejemplo, máximos o mínimos sucesivos)². La multiplicación de la frecuencia en ciclos por segundo por la longitud de onda en metros por ciclo da la *velocidad de propagación* v_i en metros por segundo:

$$v_i = \nu \lambda_i \quad (6-1)$$

Es importante tener en cuenta que la frecuencia de un haz de radiación está determinada por la fuente y *permanece invariable*. Por el contrario, la velocidad de la radiación depende de la composición del medio que atraviesa. Por tanto, se puede ver a partir de la Ecuación 6-1 que la longitud de onda de la radiación depende también del medio. El subíndice i de la Ecuación 6-1 pone de manifiesto esta dependencia.

En el vacío, la velocidad de la radiación es independiente de la longitud de onda y alcanza su valor máximo. Esta velocidad, representada por el símbolo c , se ha determinado que es $2,99792 \times 10^8$ m/s. Hay que tener en cuenta que la velocidad de la radiación en el aire sólo difiere un poco de c (aproximadamente un 0,03 por 100 menos); por tanto, ya sea para el aire o para el vacío, la Ecuación 6-1 puede escribirse con tres expresiones como

$$c = \nu \lambda = 3,00 \times 10^8 \text{ m/s} = 3,00 \times 10^{10} \text{ cm/s} \quad (6-2)$$

² Las unidades usadas habitualmente para designar la longitud de onda difieren considerablemente según las diversas regiones espectrales. Por ejemplo, el angstrom, Å (10^{-10} m) es adecuado para las radiaciones de rayos X y ultravioleta corta; el nanómetro, nm (10^{-9} m), se usa con las radiaciones visible y ultravioleta; el micrómetro, μm (10^{-6} m), es útil para la región infrarroja. (El micrómetro se denominó *micrón* en la bibliografía antigua; la utilización de este término no es aconsejable.)

En cualquier medio material, la propagación de la radiación disminuye a causa de la interacción entre el campo electromagnético de la radiación y los electrones enlazantes de la materia. Dado que la frecuencia radiante permanece invariable y viene fijada por la fuente, la longitud de onda debe disminuir cuando la radiación pasa del vacío a algún otro medio (Ecuación 6-2). Este efecto se ilustra en la Figura 6-2 para un haz monocromático de radiación visible³. Obsérvese que cuando atraviesa el vidrio, la longitud de onda se acorta cerca de 200 nm, o más de un 30 por 100; el cambio opuesto ocurre cuando la radiación entra de nuevo en el aire.

Otra posibilidad más de describir la radiación electromagnética es el *número de onda*, $\bar{\nu}$, que se define como el inverso de la longitud de onda en centímetros. La unidad de $\bar{\nu}$ es cm^{-1} . El número de onda se usa mucho en espectroscopia infrarroja. El número de onda es una unidad útil porque, al revés que la longitud de onda, es directamente proporcional a la frecuencia y a la energía de la radiación. Así pues, se puede escribir

$$\bar{\nu} = k\nu \quad (6-3)$$

donde la constante de proporcionalidad k depende del medio y es igual a la inversa de la velocidad (Ecuación 6-1).

La *potencia* P de la radiación es la energía del haz que llega a una superficie dada por segundo, mientras que la *intensidad* I es la potencia por unidad de ángulo sólido. Estos parámetros se relacionan con el cuadrado de la amplitud A (véase Figura 6-1). Aunque estrictamente no es correcto,

³ Un haz *monocromático* es un haz de radiación cuyos rayos tienen la misma longitud de onda. Un haz *policromático* está compuesto por rayos de diferentes longitudes de onda.

potencia e intensidad se usan a menudo como sinónimos.

6B-2. El espectro electromagnético

Como se muestra en la Figura 6-3, el espectro electromagnético abarca un intervalo enorme de longitudes de onda y de frecuencias (y así como de energías). De hecho, el intervalo es tan grande que se necesita una escala logarítmica. La Figura 6-3 también describe cualitativamente las principales regiones espectrales. Las divisiones se basan en los métodos que se precisan para generar y detectar las diversas clases de radiación. Varios solapamientos son evidentes. Obsérvese que la región visible del espectro percibido por el ojo humano es muy pequeña si se compara con otras regiones espectrales. Hay que tener en cuenta también que los métodos espectroquímicos que utilizan no sólo la radiación visible sino también la radiaciones ultravioleta e infrarroja se denominan con frecuencia *métodos ópticos*, a pesar de que el ojo humano no es sensible a los dos últimos tipos de radiación. Esta terminología algo ambigua surge de las muchas características comunes de los instrumentos utilizados para las tres regiones espectrales y de las similitudes que se observan en las interacciones de los tres tipos de radiación con la materia.

La Tabla 6-1 recoge los intervalos de longitud de onda y de frecuencia de las regiones del espectro que interesan con fines analíticos, así como los nombres de los diversos métodos espectroscópicos asociados con cada uno. La última columna de la tabla indica los tipos de transiciones cuánticas nu-

cleares, atómicas o moleculares que constituyen el fundamento de las distintas técnicas espectroscópicas.

6B-3. Descripción matemática de una onda

Si se toma el tiempo como una variable, la onda en la Figura 6-1b puede definirse mediante la ecuación de una onda senoide. O sea,

$$y = A \sin(\omega t + \phi) \quad (6-4)$$

en la que y es el campo eléctrico, A es la amplitud o valor máximo de y , t es el tiempo, y ϕ es el *ángulo de fase*, un término definido en el Apartado 2B-1, página 28. La velocidad angular del vector ω se relaciona con la frecuencia de la radiación ν por medio de la ecuación

$$\omega = 2\pi\nu$$

Sustituyendo esta relación en la Ecuación 6-4 resulta

$$y = A \sin(2\pi\nu t + \phi) \quad (6-5)$$

6B-4. Superposición de ondas

El *principio de superposición* establece que, cuando dos o más ondas atraviesan la misma región del espacio, se produce un desplazamiento igual a la suma de los desplazamientos causados por las on-

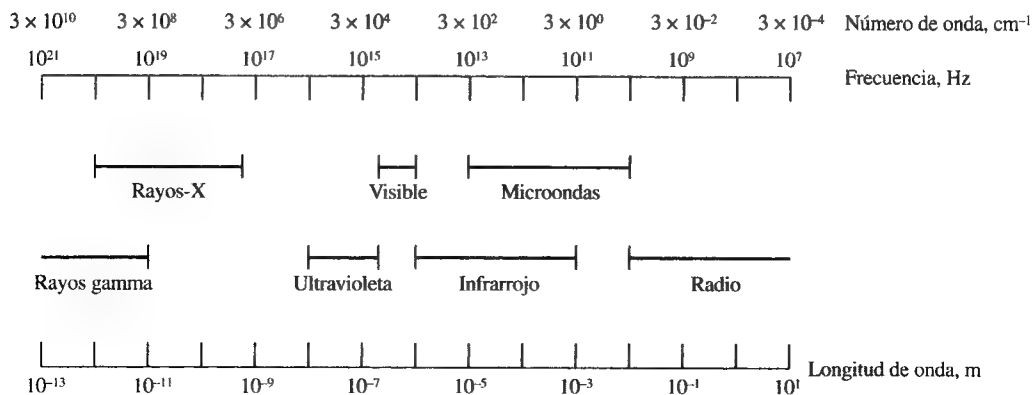


Figura 6-3. Regiones del espectro electromagnético.

TABLA 6-1. Métodos espectroscópicos generales basados en la radiación electromagnética

Tipo de espectroscopia	Intervalo habitual de longitud de onda*	Intervalo habitual de número de onda, cm ⁻¹	Tipo de transición cuántica
Emisión de rayos gamma	0,005-1,4 Å	—	Nuclear
Absorción, emisión, fluorescencia y difracción de rayos X	0,1-100 Å	—	Electrones internos
Absorción ultravioleta de vacío	10-180 nm	1 × 10 ⁶ a 5 × 10 ⁴	Electrones de enlace
Absorción, emisión y fluorescencia ultravioleta visible	180-780 nm	5 × 10 ⁴ a 1,3 × 10 ⁴	Electrones de enlace
Absorción infrarroja y dispersión Raman	0,78-300 μm	1,3 × 10 ⁴ a 3,3 × 10 ¹	Rotación/vibración de moléculas
Absorción de microondas	0,75-3,75 mm	13-27	Rotación de moléculas
Resonancia de espín electrónico	3 cm	0,33	Espín de los electrones en un campo magnético
Resonancia magnética nuclear	0,6-10 m	1,7 × 10 ⁻² a 1 × 10 ³	Espín de los núcleos en un campo magnético

* 1 Å = 10⁻¹⁰ m = 10⁻⁸ cm1 nm = 10⁻⁹ m = 10⁻⁷ cm1 μm = 10⁻⁶ m = 10⁻⁴ cm

das individuales. Este principio se aplica a ondas electromagnéticas en las que los desplazamientos son fruto de un campo eléctrico, así como a otros diversos tipos de ondas en las que se desplazan átomos o moléculas. Cuando n ondas electromagnéticas que se diferencian en su frecuencia, amplitud y ángulo de fase pasan al mismo tiempo por un punto del espacio, se puede escribir basándose en el principio de superposición y en la Ecuación 6-5

$$y = A_1 \sin(2\pi\nu_1 t + \phi_1) + A_2 \sin(2\pi\nu_2 t + \phi_2) + \dots + A_n \sin(2\pi\nu_n t + \phi_n) \quad (6-6)$$

donde y es el campo resultante.

La línea continua de la Figura 6-4a muestra la aplicación de la Ecuación 6-6 a dos ondas de idéntica frecuencia pero algo diferentes en amplitud y ángulo de fase. La resultante es una función periódica con la misma frecuencia pero mayor amplitud que cualquiera de las ondas componentes. La Figura 6-4b se diferencia de la 6-4a en que la diferencia de fase es mayor; en este caso, la amplitud resultante es menor que la de las ondas componentes. Puede verse con claridad, que se producirá una am-

plitud máxima de la resultante cuando las dos ondas estén totalmente en fase —una situación que prevalece siempre que la diferencia de fases entre ondas ($\phi_1 - \phi_2$) sea de 0 grados, 360 grados, o un múltiplo entero de 360 grados—. En estas condiciones, se dice que se origina una *interferencia constructiva* máxima. Una *interferencia destructiva* máxima se produce cuando ($\phi_1 - \phi_2$) sea igual a 180 grados o 180 grados más un múltiplo entero de 360 grados. El proceso de la interferencia juega un importante papel en numerosos métodos instrumentales en los que está involucrada la radiación electromagnética.

La Figura 6-5 representa la superposición de dos ondas con amplitud idéntica pero frecuencia diferente. La onda resultante ya no es sinusoidal pero presenta una periodicidad o *pulsación*. Obsérvese que el período de la pulsación P_b es la inversa de la diferencia de frecuencias $\Delta\nu$ entre las dos ondas. O sea,

$$P_b = \frac{1}{\Delta\nu} = \frac{1}{(\nu_2 - \nu_1)} \quad (6-7)$$

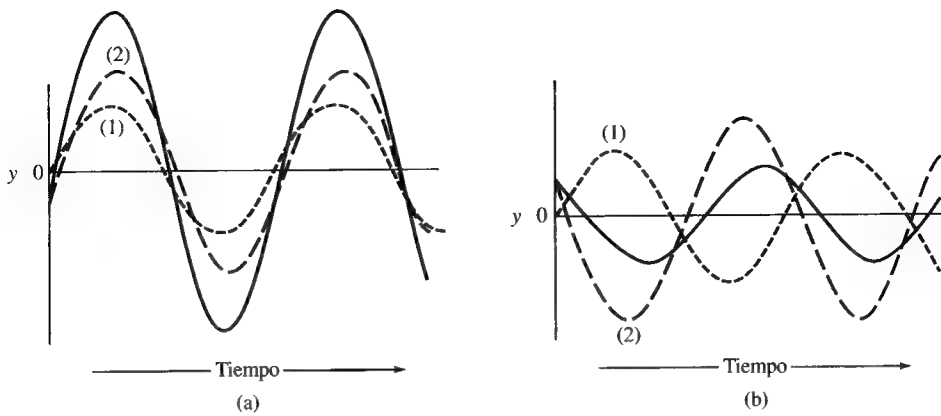


Figura 6-4. Superposición de ondas sinusoidales. (a) $A_1 < A_2$, $(\phi_1 - \phi_2) = -20^\circ$, $v_1 = v_2$; (b) $A_1 < A_2$, $(\phi_1 - \phi_2) = -200^\circ$, $v_1 = v_2$. En cada caso, la curva de trazo continuo resulta de la combinación de las dos curvas de trazo discontinuo.

Un aspecto importante de la superposición consiste en que una onda compleja puede descomponerse en componentes simples por medio de una operación matemática denominada *transformación de Fourier*. Jean Fourier, matemático francés (1768-1830), demostró que cualquier función periódica, independientemente de su complejidad, puede describirse por una suma de términos sencillos de seno y coseno. Por ejemplo, la forma de onda cuadrada,

muy utilizada en electrónica, puede describirse por una ecuación del tipo

$$y = A \left(\sin 2\pi vt + \frac{1}{3} \sin 6\pi vt + \frac{1}{5} \sin 10\pi vt + \dots + \frac{1}{n} \sin 2n\pi vt \right) \quad (6-8)$$

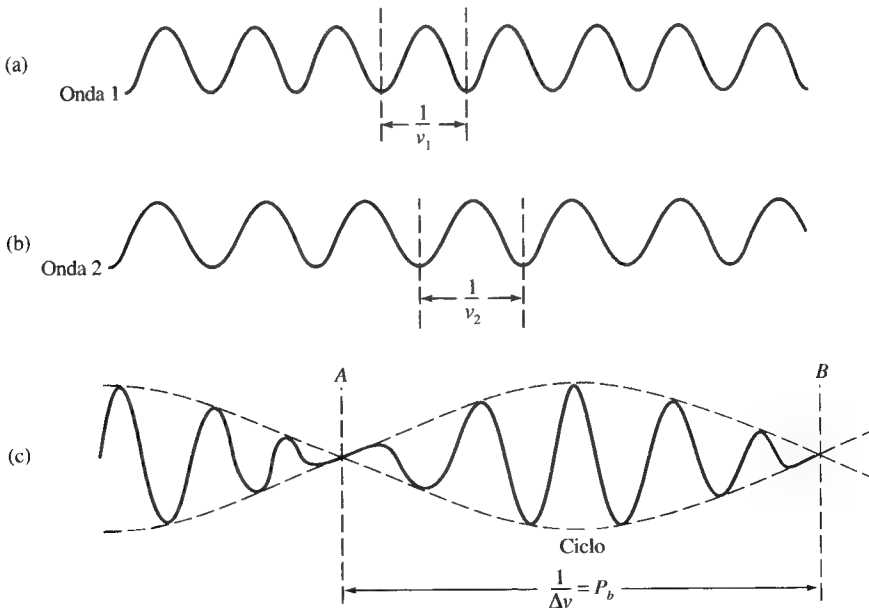


Figura 6-5. Superposición de dos ondas de frecuencia diferente pero amplitud idéntica. (a) La onda 1 tiene un período de $1/v_1$. (b) La onda 2 tiene un período de $1/v_2$; $v_2 = 1,25 v_1$. (c) Modelo ondulatorio combinado. Obsérvese que la superposición de v_1 y v_2 produce un modelo cíclico con un período de $1/\Delta v$ en el que $\Delta v = |v_1 - v_2|$.

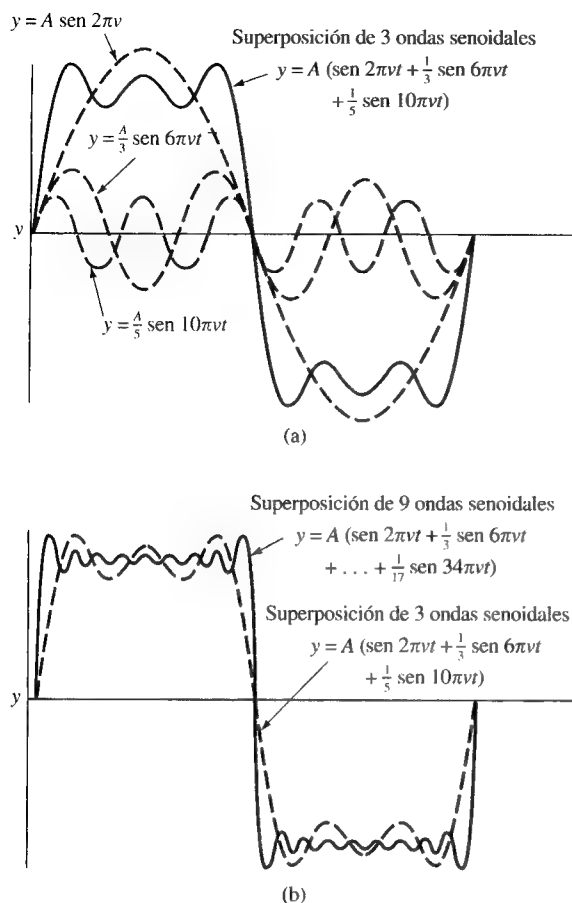


Figura 6-6. Superposición de ondas senoidales para formar una onda cuadrada: (a) combinación de tres ondas senoidales y (b) combinación de tres, como en (a) y de nueve ondas senoidales.

en la que n toma los valores de 3, 5, 7, 9, 11, 13 y así sucesivamente. Una representación gráfica de este proceso sumatorio se muestra en la Figura 6-6. La línea continua de la Figura 6-6a representa la suma de tres ondas senoidales que difieren en amplitud según la relación de 5:3:1 y en frecuencia según la relación 1:3:5. Obsérvese que la resultante ya empieza a aproximarse al perfil de una onda cuadrada, tras incluir solamente tres términos en la Ecuación 6-8. La línea continua de la Figura 6-6b muestra que la resultante de incorporar nueve ondas se ajusta más a una onda cuadrada.

La descomposición de una forma de onda compleja en sus componentes seno o coseno es tediosa y larga, si se hace manualmente. Sin embargo, un software eficaz permite realizar de manera rutinaria en un ordenador las transformaciones de Fourier. La aplicación de esta técnica se mencionó en

el Apartado 5C-2 y se considerará en el estudio de varios tipos de espectroscopia.

6B-5. Difracción de la radiación

Cualquier tipo de radiación electromagnética produce *difracción*, un proceso por el que un haz paralelo de radiación se curva cuando pasa por un obstáculo puntiagudo o a través de una abertura estrecha. La Figura 6-7 ilustra este proceso. La difracción es una propiedad ondulatoria, que puede observarse no sólo para la radiación electromagnética sino también para las ondas mecánicas o acústicas. Por ejemplo, la difracción se demuestra con facilidad en el laboratorio generando mecánicamente ondas de frecuencia constante en un depósito de agua y observando las crestas ondulatorias antes y después de pasar a través de una abertura rectangular o rendija. Cuando la rendija es ancha en comparación con la longitud de onda (Fig. 6-7a), la difracción es insignificante y difícil de detectar. Pero, cuando la longitud de onda y la abertura de la rendija son del mismo orden de magnitud, como en

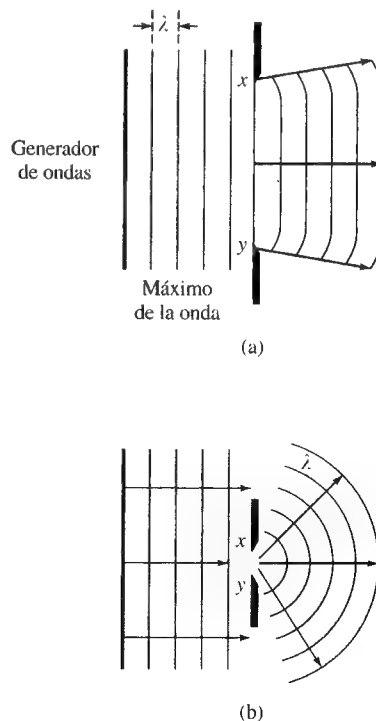


Figura 6-7. Propagación de ondas a través de una rendija. (a) $xy \gg \lambda$; (b) $xy = \lambda$.

la Figura 6-7b, la difracción llega a ser intensa. En este caso, la rendija se comporta como una nueva fuente a partir de la cual las ondas se irradian en una serie de arcos de casi 180 grados. Así pues, la dirección del frente de onda se curva al pasar entre los dos bordes de la rendija.

La difracción es una consecuencia de la *interferencia*. Esta relación se comprende más fácilmente si se considera un experimento, realizado por primera vez por Thomas Young en 1800, en el que la naturaleza ondulatoria de la luz se demostraba de modo inequívoco. Como se muestra en la Figura 6-8a, se deja que un haz paralelo de luz atraviese una rendija estrecha *A* (o en el experimento de Young, un orificio muy pequeño), después de lo cual se difracta e ilumina casi por igual a dos rendijas u orificios muy pequeños *B* y *C* próximos entre sí; se observa la radiación que sale de estas rendijas seguidamente en una pantalla colocada en el plano *XY*. Si la radiación es monocromática, se observan una serie de imágenes oscuras y luminosas perpendiculares al plano de la página.

La Figura 6-8b es una representación gráfica de las intensidades de las bandas en función de la distancia a lo largo de la pantalla. Si, como en este diagrama, las anchuras de las rendijas se aproximan a la longitud de onda de la radiación, las intensidades de las bandas disminuyen de manera gradual a medida que aumentan las distancias respecto a la banda central. Con rendijas más anchas, la disminución es mucho más pronunciada.

En la Figura 6-8a, la existencia de la banda central *E*, que cae en la zona oscura del material opaco que separa las dos rendijas, se explica fácilmente si se observa que las trayectorias de *B* a *E* y de *C* a *E* son iguales. Por tanto, se obtiene una interferencia constructiva de los rayos difractados por las dos rendijas y se observa una banda intensa. Con la ayuda de la Figura 6-8c, se deducen las condiciones para la máxima interferencia constructiva, originadas por las otras bandas luminosas. En la Figura 6-8c, el ángulo de difracción θ es el ángulo que forma la normal con la línea discontinua que va del punto *O*, equidistante de ambas rendijas, al

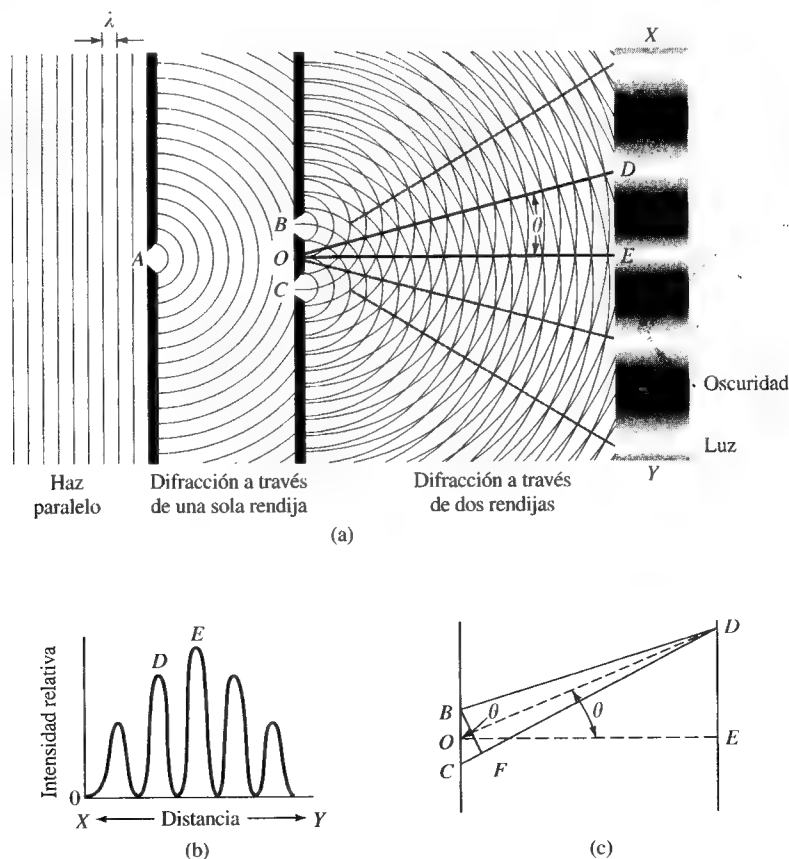


Figura 6-8. Difracción de la radiación monocromática por medio de rendijas.

punto de máxima intensidad D . Las líneas continuas BD y CD representan los recorridos de la luz desde las rendijas B y C a ese punto. Por lo general, la distancia $\overline{OE}$ es enorme, comparada con la distancia $\overline{BC}$ entre ambas rendijas, y, en consecuencia, las líneas BD , OD y CD son paralelas, a efectos prácticos. La línea BF es perpendicular a CD y forma parte del triángulo BCF , que es, con gran aproximación, semejante al DOE ; por tanto, el ángulo CBF es igual al ángulo de difracción θ . Se puede pues escribir

$$\overline{CF} = \overline{BC} \text{ sen } \theta$$

Como BC es muy pequeño comparado con $\overline{OE}$, $\overline{FD}$ se aproxima mucho a $\overline{BD}$, y la distancia $\overline{CF}$ constituye una adecuada medida de la diferencia entre las trayectorias de los haces BD y CD . Para que los dos haces estén en fase en D , hace falta que $\overline{CF}$ se corresponda con la longitud de onda de la radiación; o sea

$$\lambda = \overline{CF} = \overline{BC} \text{ sen } \theta$$

También se produce un reforzamiento cuando la longitud de la trayectoria adicional corresponde a 2λ , 3λ , y así sucesivamente. Así pues, una expresión más general para las bandas luminosas en torno a la banda central es

$$n\lambda = \overline{BC} \text{ sen } \theta \quad (6-9)$$

donde n es un número entero denominado *orden* de interferencia.

El desplazamiento lineal $\overline{DE}$ del haz difractado a lo largo del plano de la pantalla es función de la distancia $\overline{OE}$ entre la pantalla y el plano de las rendijas, así como del espaciado entre ellas y viene dado por

$$\overline{DE} = \overline{OD} \text{ sen } \theta$$

Sustituyendo en la Ecuación 6-9 resulta

$$n\lambda = \frac{\overline{BC}}{\overline{OD}} \frac{\overline{DE}}{\text{sen } \theta} = \frac{\overline{BC}}{\overline{OE}} \overline{DE} \quad (6-10)$$

La Ecuación 6-10 permite calcular la longitud de onda a partir de los tres valores medibles.

EJEMPLO 6-1

Supóngase que la pantalla de la Figura 6-8 está a 2,00 m del plano de las rendijas y que el espaciado entre ellas es de 0,300 mm. ¿Cuál es la longitud de onda de la radiación si la cuarta banda aparece a 15,4 mm de la banda central?

Sustituyendo en la Ecuación 6-10 resulta

$$4\lambda = \frac{0,300 \text{ mm} \times 15,4 \text{ mm}}{2,00 \text{ m} \times 1.000 \text{ mm/m}} = 0,00231 \text{ mm}$$

$$\lambda = 5,78 \times 10^{-4} \text{ mm} = 578 \text{ nm}$$

6B-6. Radiación coherente

Para lograr un modelo de difracción como el mostrado en la Figura 6-8a, es necesario que las ondas electromagnéticas que se desplazan desde las rendijas B y C hasta cualquier punto en la pantalla (como D o E) tengan diferencias de fase netamente definidas, las cuales permanezcan *totalmente* constantes en el tiempo; esto es, la radiación procedente de las rendijas B y C debe ser *coherente*. Las condiciones para que exista la coherencia son que (1) las dos fuentes de radiación deben tener idéntica frecuencia (o conjuntos de frecuencias) y (2) las relaciones de fase entre los dos haces deben permanecer constantes en el tiempo. La necesidad de estos requisitos puede demostrarse iluminando las dos rendijas de la Figura 6-8a con dos lámparas individuales de wolframio. En estas condiciones desaparece el modelo de luz y oscuridad bien definido, y es sustituido por una iluminación más o menos uniforme de la pantalla. Este comportamiento es consecuencia del carácter *incoherente* de las fuentes de filamento (también son incoherentes muchas otras fuentes de radiación electromagnética).

En las fuentes incoherentes, la luz es emitida por átomos o moléculas individuales, y el haz resultante es la suma de innumerables procesos individuales, cada uno de los cuales dura del orden de 10^{-8} s. Así pues, un haz de radiación procedente de esta clase de fuente no es continuo, sino que está constituido por una serie de *trenes de ondas* de unos pocos metros de longitud como máximo. Dado que los procesos que originan trenes de ondas se producen al azar, las diferencias de fase entre estos trenes también deben ser variables. Un tren de ondas procedente de la rendija B puede llegar

hasta un punto en la pantalla en fase con otro tren de ondas procedente de la rendija *C* de forma que se produzca una interferencia constructiva: un instante después, los trenes pueden estar completamente desfasados en ese mismo punto y producirse una interferencia destructiva. Por tanto, la radiación en todos los puntos de la pantalla está determinada por las variaciones aleatorias de fase entre los trenes de ondas; el resultado es una iluminación uniforme, que representa el promedio de los trenes.

Existen fuentes que producen radiación electromagnética en forma de trenes con longitud prácticamente infinita y frecuencia constante. Ejemplos de este tipo son los osciladores de radiofrecuencia, las fuentes de microondas y los láseres ópticos. Diversas fuentes mecánicas, como un vibrador de dos púas introducido en una cubeta de ondas que contiene agua, constituyen un análogo mecánico de radiación coherente. Cuando dos fuentes coherentes sustituyen a la rendija *A* en el experimento de la Figura 6-8a, se observa un modelo de difracción regular.

Se pueden obtener modelos de difracción a partir de fuentes aleatorias, tales como filamentos de wolframio, siempre que se utilice un sistema similar al de la Figura 6-8a. En este caso, la rendija *A*, muy estrecha, asegura que la radiación que llega a *B* y *C* emana de la misma pequeña región de la fuente. En estas circunstancias, los diversos trenes de ondas que salen de las rendijas *B* y *C* tienen un conjunto constante de frecuencias y de relaciones de fase uno respecto a otro y son, por tanto, coherentes. Si se ensancha la rendija *A* de forma que le llegue una mayor parte de las radiaciones de la fuente, el modelo de difracción llega a suavizarse, debido a que los dos haces sólo son parcialmente coherentes. Si la rendija *A* se hace lo suficientemente ancha, la incoherencia puede ser lo bastante grande como para originar sólo una iluminación constante en la pantalla.

6B-7. Transmisión de la radiación

Experimentalmente se observa que la velocidad a la que se propaga la radiación a través de una sustancia transparente es menor que su velocidad en el vacío y depende de los tipos y concentraciones de átomos, iones o moléculas del medio. De estas observaciones se deduce que la radiación debe interactuar de alguna manera con la materia. Sin embargo, dado que no se observa ningún cambio en la

frecuencia, la interacción *no puede* implicar una transferencia permanente de energía.

El *índice de refracción* de un medio es una medida de su interacción con la radiación y se define como

$$\eta_i = \frac{c}{v_i} \quad (6-11)$$

en la que η_i es el índice de refracción para una frecuencia determinada *i*, v_i es la velocidad de la radiación en el medio, y *c* es su velocidad en el vacío. El índice de refracción de la mayoría de los líquidos está entre 1,3 y 1,8; para los sólidos va desde 1,3 a 2,5 o incluso hasta valores superiores⁴.

La interacción implicada en la transmisión puede atribuirse a la *polarización* periódica de las especies atómicas y moleculares que constituyen el medio. En este contexto, la polarización significa una deformación transitoria de las nubes de electrones asociadas a los átomos o a las moléculas, causada por el campo electromagnético alternante de la radiación. Puesto que la radiación no se absorbe, la energía requerida para la polarización sólo se retiene momentáneamente (10^{-14} a 10^{-15} s) por las especies y se emite de nuevo sin alteración cuando la sustancia vuelve a su estado original. Ya que no hay un cambio neto de energía en este proceso, la frecuencia de la radiación emitida no varía, pero la velocidad de su propagación disminuye a causa del tiempo necesario para que se produzca la retención y la reemisión. Por tanto, la transmisión a través de un medio puede considerarse como un proceso por etapas en el que intervienen como intermediarios átomos, iones o moléculas polarizados.

La radiación a partir de partículas polarizadas debería emitirse en todas las direcciones de un medio. Sin embargo, si las partículas son pequeñas, se puede demostrar que la interferencia destructiva impide la propagación de cantidades significativas en cualquier dirección que no sea la de la trayectoria original de la luz. Por otra parte, si el medio contiene partículas grandes (como moléculas de polímeros o partículas coloidales), esta interferencia destructiva es incompleta y una porción del haz se dispersa en todas direcciones como consecuen-

⁴ Para una explicación más completa de la refractometría, véase S. Z. Lewin y N. Bauer, en *Treatise on Analytical Chemistry*, I. M. Kolthoff y P. J. Elving, Eds., Parte I, Vol. 6, Capítulo 70. New York: Interscience, 1965.

cia de la etapa de la interacción. La dispersión se estudia en un apartado posterior de este capítulo.

Como la velocidad de la radiación a través de la materia depende de la longitud de onda y como c en la Ecuación 6-11 es independiente de este parámetro, el índice de refracción de una sustancia debe variar también con la longitud de onda. La variación del índice de refracción de una sustancia con la longitud de onda o con la frecuencia se denomina *dispersión refractiva*. La dispersión refractiva de una sustancia característica se muestra en la Figura 6-9. Sin duda, la relación es compleja; sin embargo, en general, las representaciones gráficas de dispersión refractiva presentan dos tipos de regiones. En la región de *dispersión refractiva normal*, hay un aumento gradual del índice de refracción al aumentar la frecuencia (o disminuir la longitud de onda). Las regiones de *dispersión refractiva anómala* son aquellos intervalos de frecuencia en las que se observa un cambio brusco del índice de refracción. La dispersión refractiva anómala siempre ocurre a frecuencias que corresponden a la frecuencia armónica natural asociada con alguna parte de la molécula, átomo o ion de la sustancia. A dicha frecuencia, se produce una transferencia permanente de energía desde la radiación a la sustancia y se observa una *absorción* del haz. La absorción se explica en un apartado posterior.

Las curvas de dispersión refractiva tienen importancia cuando se eligen materiales para los componentes ópticos de los instrumentos. Una sustancia que presenta dispersión refractiva normal en la región de longitudes de onda de interés es más

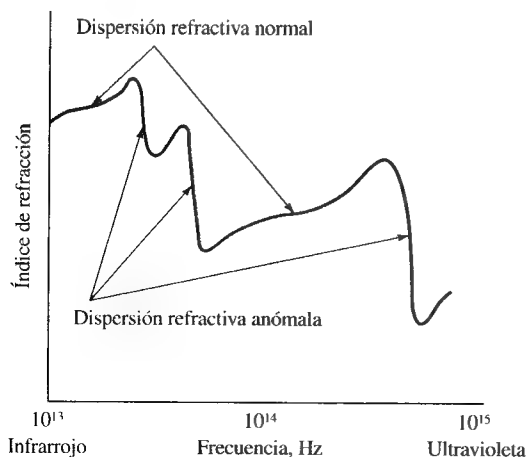


Figura 6-9. Curva característica de la dispersión refractiva.

adecuada para la fabricación de lentes, para las que es deseable un índice de refracción elevado y bastante constante. Las aberraciones cromáticas (formación de imágenes coloreadas) se minimizan con la elección de dichos materiales. Por el contrario, para la fabricación de prismas se escoge una sustancia con un índice de refracción que no sólo sea grande sino que también dependa altamente de la frecuencia. Por tanto, la región de longitudes de onda utilizable para un prisma es aproximadamente igual a la región de dispersión refractiva anómala del material del que está fabricado.

6B-8. Refracción de la radiación

Cuando la radiación incide con un ángulo en la interfase entre dos medios transparentes que tienen densidades diferentes, se observa un cambio brusco en la dirección, o *refracción*, del haz como consecuencia de una diferencia en la velocidad de la radiación en los dos medios. Cuando el haz pasa de un medio menos denso a uno más denso, como en la Figura 6-10, la desviación se acerca a la normal hasta la interfase. Cuando pasa de un medio más denso a otro menos denso, se observa una desviación separándose de la normal.

La magnitud de la refracción viene dado por la ley de Snell:

$$\frac{\sin \theta_1}{\sin \theta_2} = \frac{\eta_2}{\eta_1} = \frac{v_1}{v_2} \quad (6-12)$$

Si M_1 en la Figura 6-10 representa el vacío, v_1 se iguala a c , y η_1 es la unidad (véase Ecuación 6-11); después de reordenar la Ecuación 6-12, se simplifica a

$$(\eta_2)_{\text{vac}} = \frac{(\sin \theta_1)_{\text{vac}}}{\sin \theta_2} \quad (6-13)$$

Los índices de refracción de la sustancia M_2 pueden calcularse, por tanto, a partir de las medidas de $(\theta_1)_{\text{vac}}$ y de θ_2 . Por conveniencia, los índices de refracción se suelen medir y escribir tomando el aire como referencia más que el vacío. Entonces el índice de refracción viene dado por

$$(\eta_2)_{\text{aire}} = \frac{(\sin \theta_1)_{\text{aire}}}{\sin \theta_2} \quad (6-14)$$

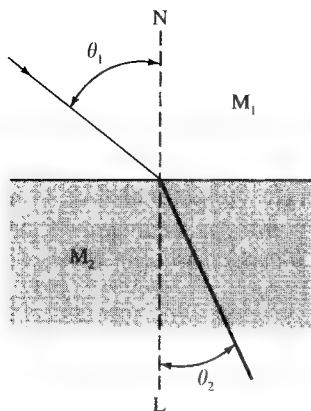


Figura 6-10. Refracción de la luz al pasar de un medio menos denso M_1 a otro más denso M_2 , en el que su velocidad es menor.

La mayoría de las tablas de índices de refracción proporcionan los datos en los términos de la Ecuación 6-14. Dichos datos se transforman fácilmente en índices de refracción respecto al vacío multiplicándolos por el índice de refracción del aire respecto al vacío. O sea,

$$\eta_{\text{vac}} = 1,00027 \eta_{\text{aire}}$$

Esta conversión rara vez se usa.

6B-9. Reflexión de la radiación

Cuando la radiación atraviesa una interfase entre medios con diferente índice de refracción, se produce siempre una reflexión. La fracción de radiación reflejada es tanto mayor cuanto mayor sea la diferencia entre los índices de refracción. Para un haz que incide perpendicularmente en una interfase, la fracción reflejada viene dada por

$$\frac{I_r}{I_0} = \frac{(\eta_2 - \eta_1)^2}{(\eta_2 + \eta_1)^2} \quad (6-15)$$

donde I_0 es la intensidad del haz incidente e I_r es la intensidad reflejada; η_1 y η_2 son los índices de refracción de los dos medios.

EJEMPLO 6-2

Calcular el tanto por ciento de pérdida de intensidad causada por la reflexión de un haz perpendicular de luz amarilla que atraviesa una cubeta de vidrio que contiene agua. Suponer que, para la luz

amarilla, el índice de refracción del vidrio es 1,50, el del agua 1,33 y el del aire 1,00.

La pérdida total por reflexión será la suma de las pérdidas que se producen en cada una de las interfases. Para la primera interfase (aire a vidrio), se puede escribir

$$\frac{I_{r1}}{I_0} = \frac{(1,50 - 1,00)^2}{(1,50 + 1,00)^2} = 0,040$$

La intensidad del haz se reduce a $(I_0 - 0,040 I_0) = 0,960 I_0$. La pérdida por reflexión en la interfase vidrio a agua viene dada por

$$\frac{I_{r2}}{0,960 I_0} = \frac{(1,50 - 1,33)^2}{(1,50 + 1,33)^2} = 0,0036$$

$$I_{r2} = 0,0035 I_0$$

La intensidad del haz se reduce todavía más a $(0,960 I_0 - 0,0035 I_0) = 0,957 I_0$. En la interfase agua a vidrio

$$\frac{I_{r3}}{0,957 I_0} = \frac{(1,50 - 1,33)^2}{(1,50 + 1,33)^2} = 0,0036$$

$$I_{r3} = 0,0035 I_0$$

y la intensidad del haz resulta $0,953 I_0$. Al final, la reflexión en la segunda interfase vidrio a aire será

$$\frac{I_{r4}}{0,953 I_0} = \frac{(1,50 - 1,00)^2}{(1,50 + 1,00)^2} = 0,0400$$

$$I_{r4} = 0,038 I_0$$

La pérdida total por reflexión I_{rr} , es

$$I_{rr} = 0,040 I_0 + 0,0035 I_0 + 0,0035 I_0 + 0,038 I_0 = 0,085 I_0$$

e

$$\frac{I_{rr}}{I_0} = 0,85 \quad \text{o} \quad 8,5 \%$$

En próximos capítulos se evidenciará que pérdidas como las indicadas en el Ejemplo 6-2 son bastante significativas en distintos instrumentos ópticos.

Las pérdidas por reflexión en una superficie de vidrio o cuarzo pulido sólo aumentan ligeramente

cuando el ángulo del haz incidente aumenta hasta alrededor de 60 grados. Sin embargo, por encima de este valor el porcentaje de radiación que se refleja crece rápidamente y se aproxima al 100 por 100 a 90 grados o ángulo de incidencia rasante.

6B-10. Dispersión de la radiación

Como ya se indicó antes, la transmisión de la radiación a través de la materia puede representarse como una retención momentánea de la energía radiante por átomos, iones o moléculas, seguida de una reemisión de la radiación en todas las direcciones cuando las partículas vuelven a su estado inicial. En el caso de partículas atómicas o moleculares que son pequeñas respecto a la longitud de onda de la radiación, la interferencia destructiva elimina la mayor parte, aunque no toda, de la radiación reemitida, excepto aquella que se desplaza en la dirección inicial del haz; como consecuencia de la interacción, la trayectoria del haz parece no haberse alterado. Sin embargo, una observación cuidadosa revela que una fracción muy pequeña de la radiación se transmite en todas las direcciones a partir de la trayectoria inicial y que la intensidad de esta *radiación dispersada* aumenta con el tamaño de partícula.

Dispersión Rayleigh

La dispersión por moléculas o agregados de moléculas de dimensiones bastante menores que la longitud de onda de la radiación se denomina *dispersión Rayleigh*; su intensidad es proporcional al inverso de la cuarta potencia de la longitud de onda, a las dimensiones de las partículas dispersantes y al cuadrado de la polarizabilidad de las partículas. Una manifestación cotidiana de la dispersión Rayleigh es el color azul del cielo, consecuencia de la mayor dispersión de las longitudes de onda más cortas del espectro visible.

Dispersión por moléculas grandes

Con partículas de dimensiones coloidales, la dispersión llega a ser lo bastante intensa para que el ojo humano la perciba (*efecto Tyndall*). La medida de la radiación dispersada se utiliza para determinar el tamaño y la configuración de moléculas de polímeros y partículas coloidales.

Dispersión Raman

La dispersión Raman se diferencia de la dispersión ordinaria en que parte de la radiación dispersada sufre cambios cuantizados de frecuencia. Estos cambios son el resultado de transiciones entre niveles de energía vibracionales de la molécula que se producen como consecuencia del proceso de polarización. La espectroscopia Raman se estudia en el Capítulo 18.

6B-11. Polarización de la radiación

La radiación ordinaria consiste en un haz de ondas electromagnéticas en el que las vibraciones se distribuyen por igual entre una serie infinita de planos centrados a lo largo de la trayectoria del haz. Visto de frente, un haz de radiación monocromática puede visualizarse como un conjunto infinito de vectores eléctricos cuya longitud fluctúa desde cero hasta una amplitud máxima A . La Figura 6-11b representa una vista frontal de estos vectores a distintos tiempos, durante el paso de una onda de radiación monocromática por un punto fijo del espacio.

La Figura 6-12a muestra algunos de los vectores de la Figura 6-11b en el instante en que la onda está en el máximo. Un vector de cualquier plano, como XY representado en la Figura 6-12a, puede descomponerse en dos componentes AB y CD perpendiculares entre sí, como se muestra en la Figura 6-12b. Si se combinan las dos componentes de todos los planos indicados en la Figura 6-12a, la resultante muestra la apariencia de la Figura 6-12c. La eliminación de uno de los dos planos de vibración resultantes de la Figura 6-12c origina un haz

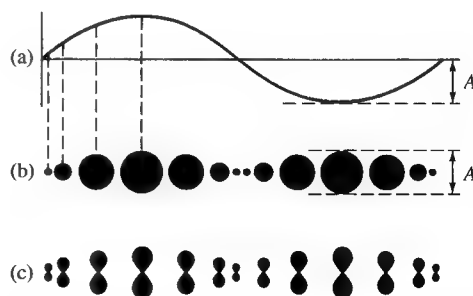


Figura 6-11. Radiación no polarizada y polarizada en el plano: (a) vista de la sección transversal de un haz de radiación monocromática, (b) vistas frontales sucesivas de la radiación en (a) si es no polarizada, (c) vistas frontales sucesivas de la radiación en (a) si es polarizada en el plano del eje vertical.

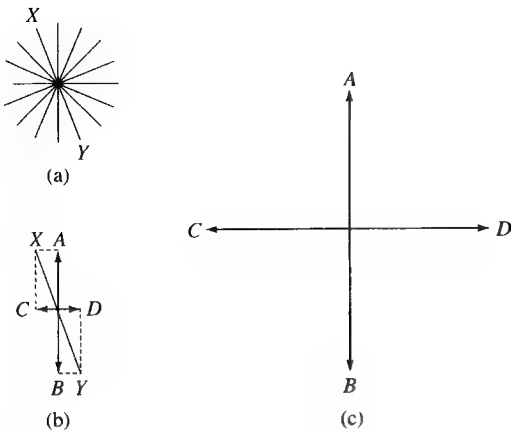


Figura 6-12. (a) Algunos vectores eléctricos de un haz que se propaga perpendicularmente al papel. (b) Descomposición en dos componentes perpendiculares de un vector en el plano XY. (c) Resultante cuando todos los vectores se han descompuesto (no está a escala).

que está *polarizado en un plano*. El vector eléctrico resultante de un haz polarizado en un plano ocupa, por tanto, un solo plano del espacio. La Figura 6-11c muestra una visión frontal de un haz de radiación polarizada en un plano, a distintos intervalos de tiempo.

La radiación electromagnética polarizada en un plano se produce en ciertas fuentes de energía radiante. Por ejemplo, tanto las ondas de radio procedentes de una antena como las microondas producidas por un tubo klistrón están polarizadas en un plano. También está polarizada la radiación visible y ultravioleta procedente de la relajación de un único átomo o molécula excitados, pero el haz de este tipo de fuente no presenta una polarización neta, ya que está constituido por una multitud de trenes de ondas individuales originados por un número enorme de procesos atómicos o moleculares individuales. El plano de polarización de estas ondas individuales es aleatorio, por lo que se anulan sus polarizaciones individuales.

La radiación polarizada ultravioleta y visible se produce por el paso de radiación a través de medios que absorben, reflejan o refractan de forma selectiva la radiación que vibra en un solo plano.

6C. PROPIEDADES MECÁNICO-CUÁNTICAS DE LA RADIACIÓN

Cuando la radiación electromagnética se absorbe o se emite, se produce una transferencia permanente

de energía al medio absorbente o procedente del objeto emisor. Para describir estos fenómenos, hay que tratar a la radiación electromagnética no como un conjunto de ondas, sino como un flujo de partículas discretas denominadas *fotones* o *cuantos*. La necesidad de disponer de un modelo corpuscular para la radiación fue evidente a raíz del descubrimiento del efecto fotoeléctrico en el siglo XIX.

6C-1. El efecto fotoeléctrico

La primera apreciación del efecto fotoeléctrico se produjo en 1887 por Heinrich Hertz, quien observó que una chispa saltaba más fácilmente entre dos esferas cargadas cuando sus superficies se iluminaban con luz. Entre el momento de esta observación y la explicación teórica del efecto fotoeléctrico por Einstein en 1905, se realizaron varios estudios importantes sobre dicho efecto en lo que ahora se conoce como fototubo de vacío. La explicación de Einstein del efecto fotoeléctrico fue a la vez sencilla y elegante, pero era demasiado adelantada para su tiempo, de modo que no se aceptó de forma general hasta 1916, cuando los estudios sistemáticos de Millikan confirmaron al detalle las conclusiones teóricas de Einstein.

La Figura 6-13 representa el esquema de un fototubo de vacío similar al usado por Millikan para el estudio del efecto fotoeléctrico. La superficie del *fotocátodo* grande, a la izquierda, está recubierto generalmente con un metal alcalino o uno de sus compuestos, pero se pueden utilizar otros metales. Cuando el fotocátodo se irradia con radiación mo-

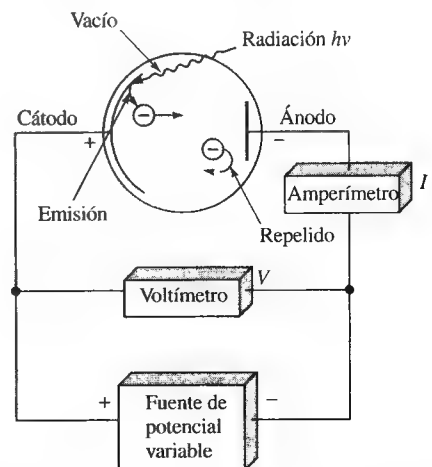


Figura 6-13. Aparato para el estudio del efecto fotoeléctrico.

nocromática, se emiten electrones desde su superficie con diferentes energías cinéticas. Mientras el potencial V aplicado entre el ánodo y el cátodo sea positivo, los electrones se mueven de izquierda a derecha a través del fototubo produciendo una corriente I en el circuito. Cuando el potencial a lo largo del fototubo se ajusta para que el ánodo sea ligeramente negativo respecto al cátodo, los fotoelectrones son repelidos por el ánodo, y la fotocorriente disminuye como era de esperar. En este punto del experimento, sin embargo, algunos de los electrones tienen suficiente energía cinética como para superar el potencial negativo aplicado sobre el ánodo y se observa todavía corriente.

Este experimento puede repetirse con fototubos cuyo fotocátodo esté recubierto con diferentes materiales. En cada experimento, se mide la fotocorriente en función del potencial aplicado, y se anota el potencial V_0 , en el que la fotocorriente llega a ser exactamente cero. El potencial negativo en el cual la fotocorriente se hace cero se denomina *potencial umbral*. Éste corresponde al potencial en el que los electrones más energéticos procedentes del cátodo son repelidos por el ánodo. Si se multiplica el potencial umbral por la carga del electrón, $e = -1,60 \times 10^{-19}$ culombios), se obtiene una medida de la energía cinética, en julios, de los electrones *más energéticos* emitidos. Cuando se repite este experimento para varias frecuencias de luz monocromática, se observan los siguientes resultados:

1. Cuando una luz de frecuencia constante se enfoca sobre el ánodo a un bajo potencial negativo aplicado, la fotocorriente es directamente proporcional a la intensidad de la radiación incidente.
2. La magnitud del potencial umbral depende de la frecuencia de la radiación irradiada sobre el fotocátodo.
3. El potencial umbral depende de la composición química del recubrimiento del fotocátodo.
4. El potencial umbral es *independiente de la intensidad de la radiación incidente*.

Estas observaciones sugieren que la radiación electromagnética es una forma de energía capaz de liberar electrones de superficies metálicas y de comunicarles suficiente energía cinética para que les permita desplazarse hasta un electrodo cargado negativamente. Además, el número de fotoelectrones liberados es proporcional a la intensidad del haz incidente.

Los resultados de estos experimentos se muestran en las representaciones gráficas de la Figura 6-14, en las que la energía cinética máxima, o energía umbral eV_0 , de los fotoelectrones se representa frente a la frecuencia para superficies de fotocátodos de potasio, de sodio y de cobre. Otras superficies dan gráficas con idénticas pendientes, h , pero con diferentes intersecciones en abscisas, ω . Las representaciones gráficas mostradas en la Figura 6-14 se describen por la ecuación

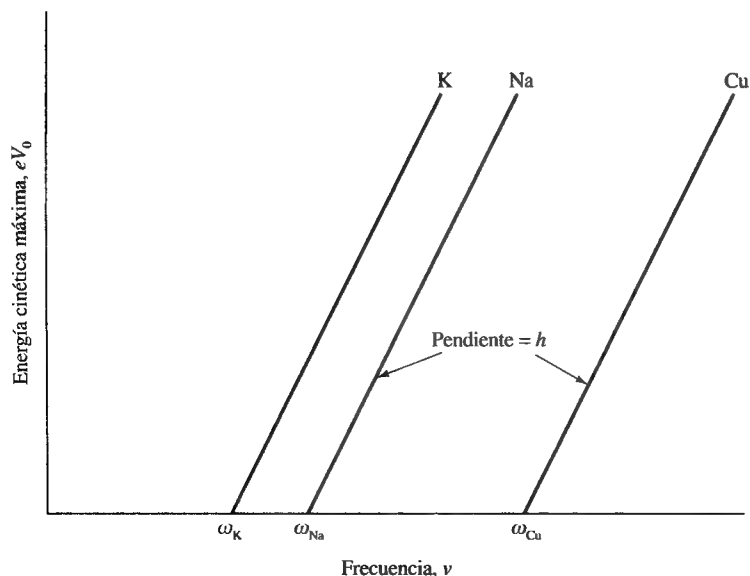


Figura 6-14. Energía cinética máxima de los fotoelectrones emitidos por tres superficies metálicas en función de la frecuencia de la radiación.

$$eV_0 = h\nu + \omega \quad (6-16)$$

En esta ecuación, la pendiente h es la constante de Planck ($6,6254 \times 10^{-34}$ julios segundo) y el corte en abscisas ω es la *función trabajo*, una constante característica del material de la superficie. Aproximadamente una década antes de que el trabajo de Millikan condujera a la Ecuación 6-16, Einstein había propuesto su ahora ya famosa ecuación en la que relaciona la frecuencia ν de la luz y la energía E

$$E = h\nu \quad (6-17)$$

Sustituyendo la ecuación de Einstein en la Ecuación 6-16 y reordenando, se obtiene

$$E = h\nu = eV_0 - \omega \quad (6-18)$$

Esta ecuación muestra que la energía de un fotón incidente es igual a la energía cinética del fotoelectrón expulsado menos la energía necesaria para expulsar el fotoelectrón de la superficie que se irradia.

El efecto fotoeléctrico no puede explicarse con un modelo ondulatorio sino que, en su lugar, hay que utilizar un modelo cuántico en el que la radiación se contempla como un flujo de haces discretos de energía, o fotones. Por ejemplo, los cálculos indican que ningún electrón podría adquirir la suficiente energía para su expulsión, si la radiación que impacta en la superficie se distribuyera uniformemente por toda la superficie del electrodo como sucede en el modelo ondulatorio; ni podría acumular tan rápidamente la energía suficiente para originar las corrientes casi instantáneas que se observan. Por tanto, es necesario asumir que la energía no se distribuye uniformemente por todo el frente del haz, sino que se concentra en paquetes, o haces de energía.

La Ecuación 6-18 puede refundirse en términos de longitud de onda sustituyendo la Ecuación 6-2. Esto es,

$$E = h \frac{c}{\lambda} = eV_0 - \omega \quad (6-19)$$

Obsérvese que aunque la energía del fotón es directamente proporcional a la frecuencia, es una función inversa de la longitud de onda.

EJEMPLO 6-3

Calcular la energía de (a) un fotón de rayos X de $5,3 \text{ \AA}$ y (b) un fotón de radiación visible de 530 nm .

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

$$(a) \quad E = \frac{(6,63 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}) \times (3,00 \times 10^8 \text{ m/s})}{5,30 \text{ \AA} \times (10^{-10} \text{ m/\AA})}$$

$$= 3,75 \times 10^{-16} \text{ J}$$

La energía de la radiación en la región de los rayos X se expresa, por lo general, en electrón-voltios, la energía adquirida por un electrón que se ha acelerado a través de un potencial de un voltio. En la tabla de conversión que aparece en la página 994 se puede ver que $1 \text{ J} = 6,24 \times 10^{18} \text{ eV}$.

$$E = 3,75 \times 10^{-16} \text{ J} \times (6,24 \times 10^{18} \text{ eV/J}) = 2,34 \times 10^3 \text{ eV}$$

$$(b) \quad E = \frac{(6,63 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}) \times (3,00 \times 10^8 \text{ m/s})}{530 \text{ nm} \times (10^{-9} \text{ m/nm})}$$

$$= 3,75 \times 10^{-19} \text{ J}$$

La energía de la radiación en la región visible a menudo se expresa en kJ/mol más que en kJ/fotón como ayuda en la explicación de las relaciones entre la energía de los fotones absorbidos y la energía de los enlaces químicos.

$$E = 3,75 \times 10^{-19} \frac{\text{J}}{\text{fotón}} \times \frac{(6,02 \times 10^{23} \text{ fotones})}{\text{mol}} \times 10^{-3} \frac{\text{kJ}}{\text{J}} = 226 \text{ kJ/mol}$$

6C-2. Estados de energía de las especies químicas

La teoría cuántica fue propuesta por primera vez en 1900 por Max Planck, un físico alemán, para explicar las propiedades de la radiación emitida por los cuerpos calientes. La teoría más tarde se amplió para racionalizar otros tipos de procesos de emisión y absorción. Dos importantes postulados de la teoría cuántica incluyen:

1. Los átomos, iones y moléculas sólo pueden existir en ciertos estados discretos, caracterizados por cantidades definidas de energía. Cuando una especie cambia su estado, absorbe o emite una cantidad de energía *exactamente* igual a la diferencia de energía entre los estados.
2. Cuando los átomos, iones o moléculas absorben o emiten radiación al realizar la transición de un estado de energía a otro, la frecuencia ν o la longitud de onda λ de la radiación se relaciona con la diferencia de energía entre los estados por la ecuación

$$E_1 - E_0 = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (6-20)$$

donde E_1 es la energía del estado superior y E_0 la energía del estado inferior. Los términos c y h son la velocidad de la luz y la constante de Planck, respectivamente.

Para átomos o iones en estado elemental, la energía de cualquier estado dado proviene del movimiento de los electrones alrededor del núcleo cargado positivamente. Consecuentemente, los distintos estados de energía se denominan *estados electrónicos*. Además de los estados electrónicos, las moléculas también tienen cuantizados los *estados vibracionales*, que están asociados a la energía de las vibraciones interatómicas, y los *estados rotacionales*, que provienen de la rotación de las moléculas alrededor de sus centros de gravedad.

El estado de energía más bajo de un átomo o molécula es su *estado fundamental*. Los estados de energía superiores se denominan *estados excitados*. Generalmente a temperatura ambiente, las especies químicas se encuentran en su estado fundamental.

6C-3. Emisión de radiación

La radiación electromagnética se origina cuando las partículas excitadas (átomos, iones o moléculas) se relajan a niveles de menor energía cediendo su exceso de energía en forma de fotones. La excitación puede producirse por diversos medios, tales como (1) el bombardeo con electrones u otras partículas elementales, que generalmente conduce a la emisión de rayos X; (2) la exposición a chispas de corriente alterna o al calor de una llama, un arco o un horno, la cual produce radiación ultravioleta, visible o infrarroja; (3) la irradiación con un haz de

radiación electromagnética, que produce radiación fluorescente; una reacción química exotérmica, que produce quimioluminiscencia.

La radiación emitida por una fuente excitada se caracteriza adecuadamente por medio de un *espectro de emisión*, que generalmente toma la forma de una representación gráfica de la potencia relativa de la radiación emitida en función de la longitud de onda o de la frecuencia. La Figura 6-15 muestra un espectro de emisión típico, que se obtuvo aspirando una disolución de salmuera a una llama de oxígeno-hidrógeno. Los tres tipos de espectros se ponen de manifiesto en la figura: de *líneas*, de *bandas* y *continuo*. El espectro de líneas está formado por una serie de picos agudos y bien definidos originados por la excitación de átomos individuales. El espectro de bandas consiste en varios grupos de líneas tan estrechamente espaciadas que no se llegan a resolver completamente. La fuente del espectro de bandas consiste en pequeñas moléculas o radicales. Finalmente, la parte continua del espectro es consecuencia del aumento del ruido de fondo que se evidencia por encima de 350 nm aproximadamente. Los espectros de líneas y de bandas están superpuestos al espectro continuo. La fuente del espectro continuo se describe en la página 141.

La Figura 6-16 es un espectro de emisión de rayos X producido por el bombardeo de un fragmento de molibdeno con un chorro de electrones de alta energía. Obsérvese que en la Figura 6-16, hay también un espectro de líneas superpuesto al continuo. La fuente del espectro continuo se describe en el Apartado 12A-1.

Espectros de líneas

Los espectros de líneas en las regiones ultravioleta y visible se producen cuando las especies radiantes son partículas atómicas individuales que están muy separadas entre sí, en estado gaseoso. Las partículas individuales en estado gaseoso se comportan como cuerpos independientes, y el espectro consiste en una serie de líneas agudas con anchuras de 10^{-4} Å aproximadamente. En la Figura 6-15, se identifican las líneas del sodio, potasio, estroncio y calcio en estado gaseoso.

El diagrama de niveles de energía en la Figura 6-17a muestra la fuente de dos de las líneas en un típico espectro de emisión de un elemento. La línea horizontal llamada E_0 corresponde a la energía más baja, o estado fundamental, del átomo. Las líneas horizontales llamadas E_1 y E_2 son dos nive-

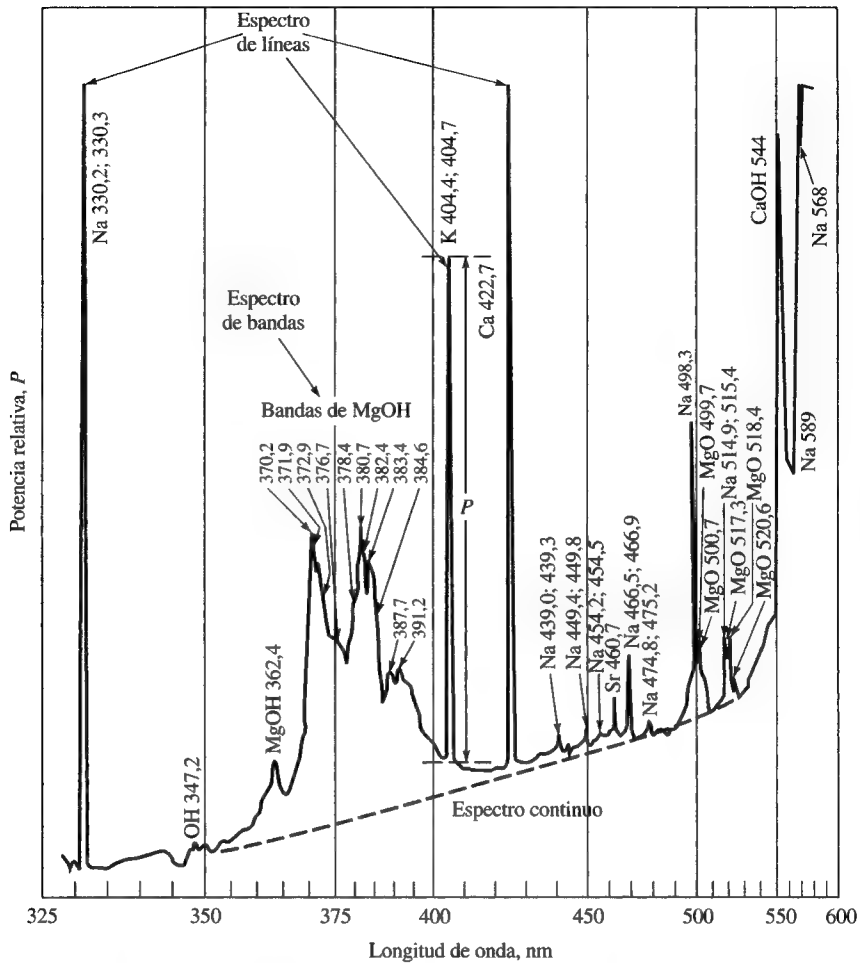


Figura 6-15. Espectro de emisión de una salmuera obtenido con una llama de oxígeno-hidrógeno. (F. Hermann y C. T. J. Alkemade, *Chemical Analysis by Flame Photometry*, 2.^a edición, pág. 484. New York: Interscience, 1963. Reproducción autorizada.)

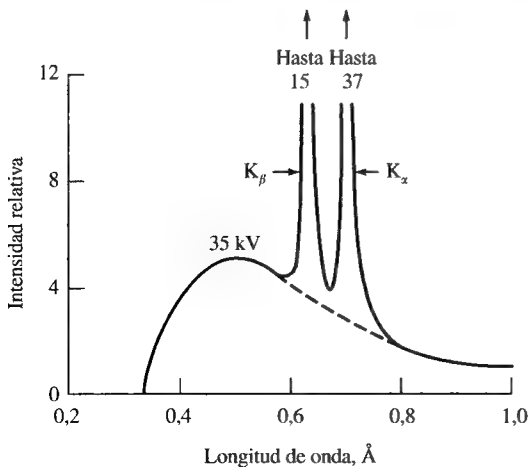


Figura 6-16. Espectro de emisión de rayos X del molibdeno metal.

les electrónicos de energía superior de la especie. Por ejemplo, el único electrón más externo del estado fundamental E_0 del átomo de sodio se localiza en el orbital 3s. El nivel de energía E_1 representa la energía del átomo cuando este electrón ha ascendido al estado 3p por absorción de energía térmica, eléctrica o radiante. La promoción está representada en la Figura 6-17a por la flecha ondulada más corta a la izquierda. Después de aproximadamente 10^{-8} s, el átomo vuelve al estado fundamental emitiendo un fotón cuya frecuencia y longitud de onda vienen dados por la Ecuación 6-20.

$$\nu_1 = (E_1 - E_0)/h$$

$$\lambda_1 = hc/(E_1 - E_0)$$

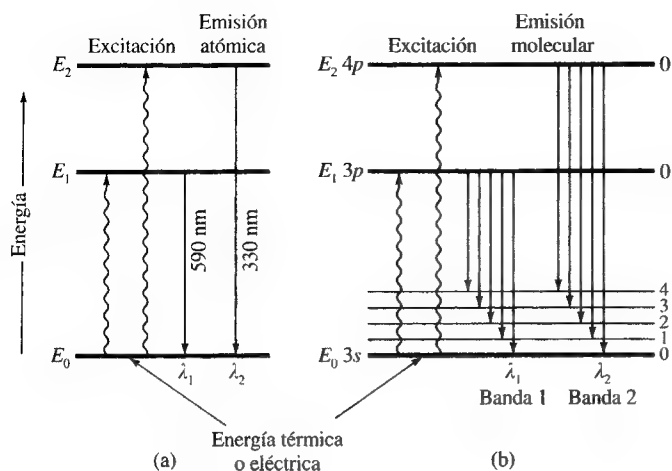


Figura 6-17. Diagramas de niveles de energía para (a) un átomo de sodio que muestra la fuente de un espectro de líneas y (b) una molécula simple que muestra la fuente de un espectro de bandas.

Este proceso de emisión se representa por la flecha recta más corta en la Figura 6-17a a la derecha.

Para el átomo de sodio, E_2 en la Figura 6-17 corresponde al estado más energético $4p$; la radiación emitida resultante λ_2 aparece a longitudes de onda más cortas o a frecuencias más altas. La línea aproximadamente a 330 nm en la Figura 6-15 resulta como consecuencia de esta transición; la transición $3p$ a $3s$ origina una línea a 590 nm aproximadamente.

Los espectros de líneas de rayos X también están producidos por transiciones electrónicas. En este caso, sin embargo, los electrones implicados son los de los orbitales más internos. Así, al contrario que en las emisiones ultravioletas y visibles, el espectro de rayos X de un elemento es independiente de su entorno. Por ejemplo, el espectro de emisión del molibdeno es el mismo aunque la muestra excitada sea molibdeno metal, sulfuro de molibdeno sólido, hexafluoruro de molibdeno gaseoso o una disolución acuosa de un complejo aniónico del metal.

Espectros de bandas

Los espectros de bandas se encuentran con frecuencia en fuentes espectrales que presentan radicales o pequeñas moléculas en estado gaseoso. Por ejemplo, en la Figura 6-15 se muestran las bandas del OH, MgOH y MgO y consisten en una serie de líneas muy cercanas que no están completamente resueltas por el instrumento utilizado para obtener el espectro. Las bandas surgen a partir de numerosos niveles vibracionales cuantizados que se superponen al nivel de energía electrónico del estado fundamental de una molécula.

La Figura 6-17b es un diagrama parcial de niveles de energía de una molécula que muestra su estado fundamental E_0 y dos de sus diferentes estados electrónicos excitados, E_1 y E_2 . También se muestran algunos de los muchos niveles vibracionales asociados al estado fundamental. Los estados vibracionales asociados a los dos estados excitados se han omitido porque el tiempo de vida de un estado vibracional excitado es breve comparado con el de un estado excitado electrónicamente (alrededor de 10^{-15} s frente a 10^{-8} s). Como consecuencia de esta gran diferencia en los tiempos de vida, cuando un electrón se excita a uno de los niveles vibracionales superiores de un estado electrónico, la relajación al nivel vibracional más bajo de ese estado sucede antes de que la transición electrónica al estado fundamental pueda suceder. Por tanto, la radiación producida por la excitación eléctrica o térmica de especies poliatómicas casi siempre resulta a partir de una transición desde el *nivel vibracional más bajo de un estado electrónico excitado* a cualquiera de los distintos niveles vibracionales del estado fundamental.

El mecanismo por el cual una especie excitada vibracionalmente se relaja al estado electrónico más próximo implica una transferencia de su exceso de energía a otros átomos del sistema por medio de una serie de colisiones. Como ya se indicó, este proceso tiene lugar a una gran velocidad. La relajación de un estado electrónico a otro puede también producirse mediante transferencia por colisiones de energía; sin embargo, la velocidad de este proceso es bastante lenta de tal manera que la relajación por medio de la liberación de un fotón se ve favorecida.

El diagrama de niveles de energía en la Figura 6-17b muestra el mecanismo por el que dos ban-

das de radiación que consisten en cinco líneas muy poco separadas se emiten por una molécula excitada mediante energía térmica o eléctrica. Para una molécula real, el número de líneas individuales es mucho mayor, ya que, además de los numerosos estados vibracionales, se superpondrían los muchísimos estados rotacionales de cada uno de ellos. Las diferencias de energía entre los niveles rotacionales son, tal vez, un orden de magnitud más pequeños que para los estados vibracionales. Así, una banda molecular real estaría constituida por muchas más líneas que las mostradas en la Figura 6-17b, y estas líneas estarían mucho menos separadas.

Espectros continuos

Como se muestra en la Figura 6-18, la verdadera radiación continua se produce cuando los sólidos se calientan hasta la incandescencia. La radiación térmica de esta clase, denominada *radiación del cuerpo negro*, es característica de la temperatura de la superficie emisora más que del material del que está compuesta la superficie. La radiación del cuerpo negro se produce por innumerables oscilaciones atómicas y moleculares excitadas en el sólido condensado por la energía térmica. Obsérvese que los picos de energía en la Figura 6-18 se desplazan a longitudes de onda más cortas con el incremento de la temperatura. Está claro que se necesitan temperaturas muy elevadas para producir una fuente excitada térmicamente para emitir una fracción sustancial de su energía como radiación ultravioleta.

Como ya se indicó anteriormente, parte de la radiación de fondo continua aparecida en el espectro de llama mostrado en la Figura 6-15 es probablemente la emisión térmica de las partículas incandescentes en la llama. Hay que destacar que

este ruido de fondo disminuye rápidamente a medida que se acerca a la región ultravioleta.

Los sólidos calentados son importantes fuentes de radiación infrarroja, visible y ultravioleta cercano para instrumentos analíticos.

6C-4. Absorción de radiación

Cuando la radiación atraviesa una capa de un sólido, un líquido o un gas, ciertas frecuencias pueden eliminarse selectivamente por *absorción*, un proceso en el que la energía electromagnética se transfiere a los átomos, iones o moléculas que componen la muestra. La absorción provoca que estas partículas pasen de su estado normal a temperatura ambiente, o estado fundamental, a uno o más estados excitados de energía superior.

De acuerdo con la teoría cuántica, los átomos, moléculas o iones sólo tienen un número limitado de niveles de energía discretos; de modo que para que se produzca la absorción de la radiación, la energía de los fotones excitadores debe coincidir *exactamente* con la diferencia de energía entre el estado fundamental y uno de los estados excitados de las especies absorbentes. Como estas diferencias de energía son características para cada especie, el estudio de las frecuencias de la radiación absorbida proporciona un medio para caracterizar los componentes de una muestra. Con este fin, se realiza experimentalmente una representación gráfica de la absorbancia en función de la longitud de onda o de la frecuencia (la *absorbancia* es una medida de la disminución de la potencia radiante, se define por la Ecuación 6-32 en el Apartado 6D-2). Algunos espectros de absorción típicos se muestran en la Figura 6-19.

El examen de las cuatro representaciones gráficas de la Figura 6-19 pone de manifiesto que el aspecto de los espectros de absorción varía considerablemente; algunos están constituidos por numerosos picos agudos, mientras que otros consisten en suaves curvas continuas. En general, la naturaleza de un espectro está influida por variables como la complejidad, el estado físico y el entorno de las especies absorbentes. Sin embargo, las diferencias entre los espectros de absorción de los átomos y los de las moléculas son más profundas.

Absorción atómica

El paso de radiación policromática ultravioleta o visible a través de un medio constituido por partí-

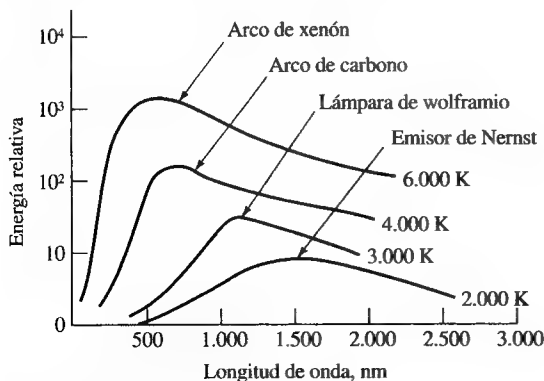


Figura 6-18. Curvas de radiación del cuerpo negro.

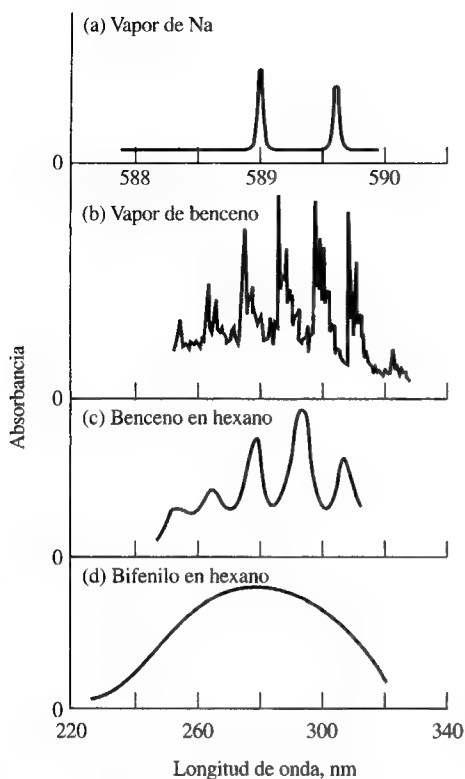


Figura 6-19. Algunos espectros de absorción ultravioleta característicos.

culas monoatómicas, como mercurio o sodio gaseosos, produce la absorción de sólo unas pocas frecuencias bien definidas (véase Fig. 6-19a). La relativa simplicidad de dichos espectros se debe al pequeño número de posibles estados de energía de las partículas absorbentes. La excitación sólo puede producirse mediante un proceso electrónico en el que uno o más de los electrones del átomo se promocionan a un nivel de energía superior. Por ejemplo, el vapor de sodio presenta dos picos de absorción agudos, muy poco separados entre sí en la región amarilla del espectro visible (589,0 y 589,6 nm), que son consecuencia de la excitación del electrón $3s$ a dos estados $3p$ que difieren muy poco en energía. También se observan, además, otras líneas estrechas de absorción correspondientes a otras transiciones electrónicas permitidas. Por ejemplo, el pico ultravioleta a aproximadamente 285 nm proviene de la excitación del electrón $3s$ del sodio al estado excitado $5p$, proceso que requiere una energía significativamente mayor que para la excitación al estado $3p$ (en realidad, el pico a 285 nm también es un doblete; sin embargo, la

diferencia de energía entre los dos picos es tan pequeña que la mayoría de los instrumentos no pueden resolverlos).

La radiación ultravioleta y visible tiene la energía suficiente para producir transiciones únicamente de los electrones más externos o electrones enlazantes. Por otra parte, las frecuencias de los rayos X son varios órdenes de magnitud más energéticas (véase el Ejemplo 6-3) y son capaces de interactuar con los electrones más próximos al núcleo de los átomos. Los picos de absorción correspondientes a las transiciones electrónicas de estos electrones más internos se observan, por tanto, en la región de los rayos X.

Absorción molecular

Los espectros de absorción de las moléculas poliatómicas, especialmente en estado condensado, son considerablemente más complejos que los espectros atómicos, ya que el número de estados de energía de las moléculas es generalmente enorme si se compara con el de los átomos aislados. La energía E , asociada a las bandas de una molécula, está formada por tres componentes. Esto es,

$$E = E_{\text{electrónica}} + E_{\text{vibracional}} + E_{\text{rotacional}} \quad (6-21)$$

donde la $E_{\text{electrónica}}$ representa la energía electrónica de la molécula que proviene de los estados energéticos de sus distintos electrones enlazantes. El segundo término de la derecha se refiere a la energía total asociada al elevado número de vibraciones interatómicas presente en las especies moleculares. En general, una molécula tiene muchos más niveles cuantizados de energía vibracional que niveles electrónicos. Finalmente, la $E_{\text{rotacional}}$ es la energía debida a los distintos movimientos rotacionales dentro de una molécula; de nuevo, el número de estados rotacionales es mucho mayor que el número de estados vibracionales. Así pues, para cada estado de energía electrónica de una molécula, generalmente existen varios estados vibracionales posibles y, a su vez, para cada uno de estos estados vibracionales, son posibles numerosos estados rotacionales. En consecuencia, el número de posibles niveles de energía para una molécula es normalmente de unos órdenes de magnitud mayor que para una partícula atómica.

La Figura 6-20 es una representación gráfica de los niveles de energía asociados a unos pocos de los numerosos estados electrónicos y vibracionales

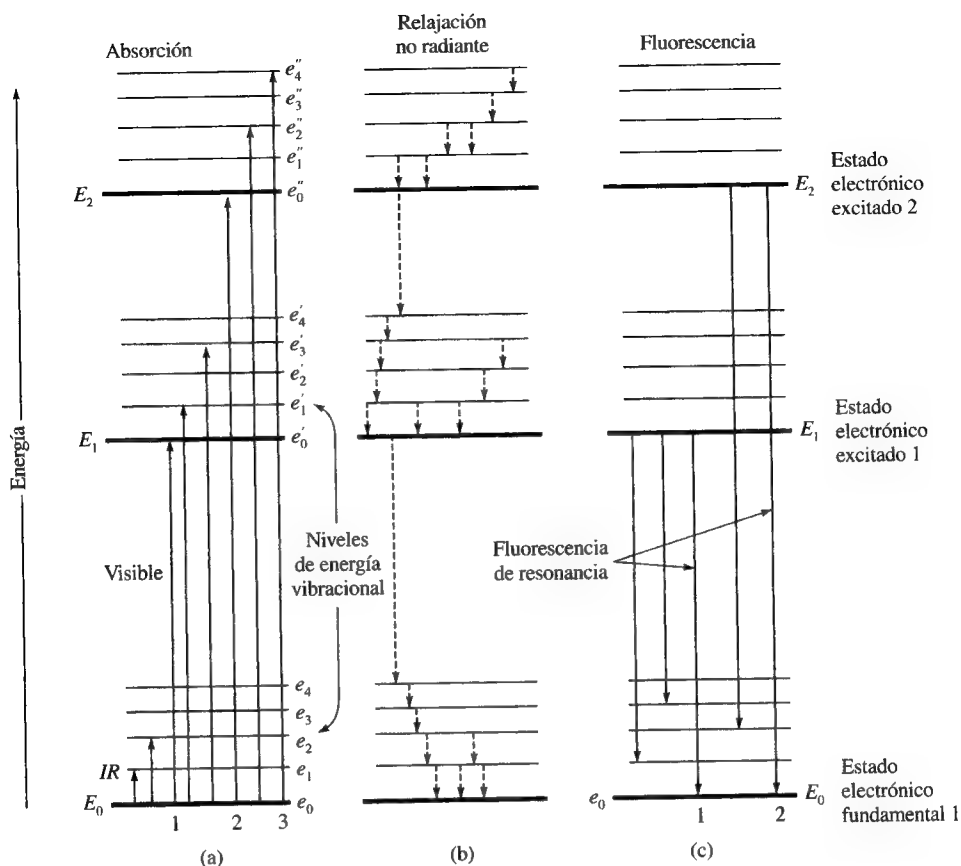


Figura 6-20. Diagramas parciales de niveles de energía de una molécula orgánica fluorescente.

de una molécula. La línea gruesa llamada E_0 representa la energía electrónica de la molécula en su estado fundamental (su estado de mínima energía electrónica); las líneas llamadas E_1 y E_2 representan las energías de dos estados electrónicos excitados. Se muestran varios de los muchos niveles de energía vibracional ($e_0, e_1, \dots, e_n$) para cada uno de estos estados electrónicos.

Como puede verse en la Figura 6-20, la diferencia de energía entre el estado fundamental y un estado electrónico excitado es, en comparación, mayor que las diferencias de energía entre los niveles vibracionales de un estado electrónico dado (las dos suelen diferir en un factor de 10 a 100).

Las flechas de la Figura 6-20a indican algunas de las transiciones resultantes de la absorción de radiación. La radiación visible provoca la excitación de un electrón desde E_0 hasta cualquiera de los n niveles vibracionales asociados a E_1 (en la Figura 6-20 sólo se muestran cinco de los n niveles vibracionales). Las posibles frecuencias de

absorción vienen dadas por n ecuaciones, cada una del tipo

$$\nu_i = \frac{1}{h}(E_1 + e'_i - E_0) \quad (6-22)$$

donde $i = 1, 2, 3, \dots, n$.

Análogamente, si el segundo estado electrónico tiene m niveles vibracionales (cuatro de los cuales se representan), las posibles frecuencias de absorción para la radiación ultravioleta vienen dadas por m ecuaciones tales como

$$\nu_i = \frac{1}{h}(E_2 + e''_i - E_0) \quad (6-23)$$

donde $i = 1, 2, 3, \dots, m$.

Finalmente, como se muestra en la Figura 6-20a, la radiación menos energética del infrarrojo cercano y medio sólo puede originar transiciones entre

los k niveles vibracionales del estado fundamental. En este caso, las k posibles frecuencias de absorción vienen dadas por k ecuaciones, que pueden formularse como

$$\nu_i = \frac{1}{h}(e_i - e_0) \quad (6-24)$$

donde $i = 1, 2, 3, \dots, k$.

Aunque no se muestren en la Figura 6-20, están asociados a cada nivel vibracional varios niveles rotacionales de energía. La diferencia de energía entre los niveles rotacionales de energía es pequeña comparada con la de los niveles vibracionales. Las transiciones entre un estado fundamental y un estado rotacional excitado se producen con radiaciones dentro del intervalo 0,01-1 cm, en el cual se incluyen las radiaciones de microondas y del infrarrojo lejano.

A diferencia de los espectros de absorción atómicos, que consisten en una serie de líneas agudas y bien definidas, los espectros moleculares de las regiones ultravioleta y visible se caracterizan normalmente por bandas de absorción que a menudo abarcan un intervalo considerable de longitudes de onda (véase Fig. 6-19b, c). La absorción molecular también implica transiciones electrónicas. Sin embargo, como se indica en las Ecuaciones 6-23 y 6-24, varias líneas de absorción muy próximas entre sí estarán asociadas a cada transición electrónica, debido a la existencia de numerosos estados vibracionales. Además, como ya se ha mencionado, muchos niveles rotacionales de energía están asociados a cada estado vibracional. Por tanto, el espectro de una molécula suele consistir en una serie de líneas de absorción muy próximas entre sí que constituyen una *banda de absorción*, como las mostradas en la Figura 6-19b para el vapor de benceno. A menos que se utilice un instrumento de alta resolución, los picos individuales no se pueden detectar y los espectros aparecerán en forma de suaves picos anchos, como los que aparecen en la Figura 6-19c. Finalmente, en estado condensado y en presencia de moléculas de disolvente, las líneas individuales tienden a ensancharse aún más dando lugar a *espectros continuos*, como los de la Figura 6-19d. Los efectos del disolvente se tratan en capítulos posteriores.

La absorción vibracional pura se observa en la región infrarroja, en la que la energía de la radiación es insuficiente para originar transiciones elec-

trónicas. Tales espectros presentan picos de absorción estrechos y próximos entre sí, que resultan de las transiciones entre los diversos niveles vibracionales cuantizados (véase la transición marcada como *IR* en la parte inferior de la Fig. 6-20a). Las variaciones en los niveles rotacionales pueden dar lugar a una serie de picos para cada estado vibracional; pero en muestras líquidas y sólidas, la rotación, a menudo, está tan impedida que los efectos de estas pequeñas diferencias energéticas, en general, no se detectan. Sin embargo, los espectros rotacionales puros en los gases se pueden observar en la región de las microondas.

Absorción inducida por un campo magnético

Cuando los electrones o los núcleos de ciertos elementos se someten a un intenso campo magnético, se pueden observar niveles adicionales de energía cuantizada como consecuencia de las propiedades magnéticas de estas partículas elementales. Las diferencias de energía entre los estados inducidos son pequeñas, y las transiciones entre los estados sólo se producen por absorción de radiación de longitud de onda larga (o baja frecuencia). En el caso de los núcleos, se usan generalmente ondas de radio de 30 a 500 MHz ($\lambda = 1.000$ a 60 cm); en el caso de los electrones, se absorben microondas de una frecuencia de aproximadamente 9.500 MHz ($\lambda = 3$ cm). La absorción por núcleos o por electrones en campos magnéticos se estudia mediante las técnicas de *resonancia magnética nuclear* (RMN) y de *resonancia de espín electrónica* (ESR) respectivamente; los métodos de resonancia magnética nuclear se estudian en el Capítulo 19.

6C-5. Procesos de relajación

En general, el tiempo de vida de un átomo o de una molécula excitados por absorción de radiación es breve, ya que existen diversos *procesos de relajación* que les permiten regresar al estado fundamental.

Relajación no radiante

Como se muestra en la Figura 6-20b, la *relajación no radiante* implica la pérdida de energía a través de una serie de pequeñas etapas, en las que la energía de excitación se transforma en energía cinética al colisionar con otras moléculas. Se produce un pequeño aumento de la temperatura del sistema.

Como se muestra en la Figura 6-20c, la relajación también se puede producir por emisión de radiación fluorescente. Otros procesos de relajación se explican en los Capítulos 15, 18 y 19.

Relajación por fluorescencia y fosforescencia

La fluorescencia y la fosforescencia son procesos de emisión, de importancia analítica, en los que los átomos o las moléculas se excitan mediante la absorción de un haz de radiación electromagnética; la emisión radiante se produce cuando las especies excitadas regresan al estado fundamental. La fluorescencia sucede más rápidamente que la fosforescencia y generalmente finaliza unos 10^{-5} s después del inicio de la excitación. La emisión de fosforescencia tiene lugar durante períodos más largos de 10^{-5} s y, de hecho, puede continuar durante minutos o incluso horas después de que la irradiación haya cesado. La fluorescencia y la fosforescencia se observan más fácilmente a un ángulo de 90 grados respecto al haz de excitación.

La *fluorescencia de resonancia* describe el proceso en el que la radiación emitida tiene la misma frecuencia que la radiación empleada para la excitación. Las líneas marcadas con un 1 y un 2 en las Figuras 6-20a y 6-20c ilustran la fluorescencia de resonancia. En este caso, la especie se excita a los estados de energía E_1 o E_2 mediante una radiación que tiene una energía igual a $(E_1 - E_0)$ o $(E_2 - E_0)$. Después de un breve período, se produce la emisión de una radiación de idéntica energía, como se indica en la Figura 6-20c. La fluorescencia de resonancia se produce más frecuentemente en *átomos* en estado gaseoso, que no tienen estados vibracionales de energía superpuestos a niveles electrónicos de energía.

La *fluorescencia no resonante* se produce por irradiación de *moléculas* en disolución o en estado gaseoso. Como se muestra en la Figura 6-20a, la absorción de la radiación promueve a las moléculas a cualquiera de los distintos niveles vibracionales asociados a los dos niveles electrónicos excitados. Sin embargo, los tiempos de vida de estos estados vibracionales excitados son tan sólo de unos 10^{-15} s, tiempo que es mucho más pequeño que los tiempos de vida de los estados electrónicos excitados (10^{-8} s). Por tanto, por término medio, la relajación vibracional ocurre antes que la relajación electrónica. En consecuencia, la energía de la radiación emitida es menor que la de la radiación absorbida en una cantidad igual a la energía vibra-

cional de excitación. Por ejemplo, para la absorción señalada con un 3 en la Figura 6-20a, la energía absorbida es igual a $(E_2 - E_0 + e_4'' - e_0'')$, mientras que la energía de la radiación fluorescente de nuevo viene dada por $(E_2 - E_0)$. Así, la radiación emitida tiene una frecuencia menor o una longitud de onda mayor que la radiación de excitación de la fluorescencia. Este desplazamiento de la longitud de onda a frecuencias menores se denomina a veces *desplazamiento de Stokes*. La fluorescencia de las moléculas puede ir acompañada tanto de radiación de resonancia como no resonante, aunque esta última tiende a predominar, ya que el número de estados excitados vibracionalmente es mucho mayor.

La fosforescencia se produce cuando una molécula excitada se relaja a un estado electrónico excitado metaestable (denominado *estado triplete*), que tiene un promedio de tiempo de vida mayor de unos 10^{-5} s. La naturaleza de este tipo de estado excitado se explica en el Capítulo 15.

6C-6. El principio de incertidumbre

El *principio de incertidumbre* se propuso por primera vez en 1927 por Werner Heisenberg, quien postuló que la naturaleza pone límites en la precisión con la que se pueden realizar determinadas parejas de medidas físicas. El principio de incertidumbre, que tiene importantes y amplias implicaciones en el análisis instrumental, se deduce fácilmente a partir del principio de superposición, que se explicó en el Apartado 6B-4. Las aplicaciones de este principio se encuentran recogidas en varios capítulos posteriores que versan sobre los métodos espectroscópicos⁵.

Supóngase que se desea determinar la frecuencia ν_1 de un haz monocromático de radiación comparándola con la señal de salida de un dispositivo de medida, consistente en un oscilador que produce un haz de luz con una frecuencia exactamente conocida ν_2 . Para detectar y medir la diferencia entre las frecuencias conocida y desconocida, $\Delta\nu = \nu_1 - \nu_2$, se deja que los dos haces interfieran como en la Figura 6-5 y se determina el intervalo de tiempo para un ciclo (de A a B en la Fig. 6-5). El tiempo mínimo Δt necesario para realizar esta medida debe ser igual o mayor que el período de un ciclo, como se muestra

⁵ Un artículo general que incluye aplicaciones sobre el principio de incertidumbre se da en L. S. Bartell, *J. Chem. Ed.*, **1985**, 62, 192.

en la Figura 6-5, y que es igual a $1/\Delta\nu$. Por tanto, el tiempo mínimo para una medida viene dado por

$$\Delta t \geq 1/\Delta\nu$$

o

$$\Delta t \Delta\nu \geq 1 \quad (6-25)$$

Obsérvese que para determinar $\Delta\nu$ con una incertidumbre igual a cero, se necesita un tiempo de medida infinito. Si la observación se realiza durante un período muy corto, la incertidumbre será grande.

Multiplicando ambos términos de la Ecuación 6-25 por la constante de Planck se obtiene

$$\Delta t \cdot (h\Delta\nu) = h$$

A partir de la Ecuación 6-17, es obvio que

$$\Delta E = h\Delta\nu$$

y

$$\Delta t \cdot \Delta E = h \quad (6-26)$$

La Ecuación 6-26 es una de las distintas formas de expresar el principio de incertidumbre de Heisenberg. El significado en palabras de esta ecuación es el siguiente. Si la energía E de una partícula o de un sistema de partículas —fotones, electrones, neutrones o protones, por ejemplo— se mide durante un período de tiempo exactamente conocido Δt , entonces dicha energía es incierta al menos en $h/\Delta t$. Por tanto, la energía de una partícula puede conocerse con una incertidumbre cero sólo si se observa durante un período infinito. Para períodos finitos, la medida de energía nunca puede ser más precisa que $h/\Delta t$. Las consecuencias prácticas de esta limitación aparecerán en algunos de los capítulos siguientes.

6D. ASPECTOS CUANTITATIVOS DE LAS MEDIDAS ESPECTROQUÍMICAS

Como se muestra en la Tabla 6-2, los métodos espectroquímicos se clasifican en cuatro categorías. Los cuatro requieren la medida de la *potencia* radiante, P , que es la energía de un haz de radiación que alcanza un área dada por segundo. En los instrumentos modernos, la potencia radiante se deter-

mina con un detector de radiación que convierte la energía radiante en una señal eléctrica S . Generalmente S es un potencial o una corriente que idealmente es directamente proporcional a la potencia radiante. Esto es,

$$S = kP \quad (6-27)$$

donde k es una constante.

Muchos detectores muestran una pequeña respuesta constante, denominada *corriente oscura*, en ausencia de radiación. En esos casos, la respuesta se establece mediante la relación

$$S = kP + k_d \quad (6-28)$$

donde k_d es la corriente oscura, que es generalmente pequeña y constante al menos durante cortos períodos de tiempo. Los instrumentos espectroquímicos están normalmente equipados con un circuito compensador que reduce k_d a cero cuando se realizan las medidas. En dichos instrumentos se aplica la Ecuación 6-27.

6D-1. Métodos basados en la emisión, luminiscencia y dispersión

Como se muestra en la columna 3 de la Tabla 6-2, en los métodos basados en la emisión, luminiscencia y dispersión, la potencia de la radiación emitida por un analito tras la excitación es, en general, directamente proporcional a la concentración del analito c ($P_e = kc$). Combinando esta ecuación con la Ecuación 6-28 da lugar a

$$S = k'c \quad (6-29)$$

donde k' es una constante que puede calcularse excitando a uno o más patrones con la radiación correspondiente al analito y midiendo S . Para los métodos basados en luminiscencia y dispersión, se aplican también relaciones análogas.

6D-2. Métodos basados en la absorción

Como se muestra en la Tabla 6-2, los métodos cuantitativos basados en la absorción requieren dos medidas de potencia: una, antes de que el haz haya pasado a través del medio que contiene al analito (P_0), y la otra, después (P). La *transmitancia* y la

TABLA 6-2. Principales clases de métodos espectroquímicos

Clase	Medida de la potencia radiante	Relación con la concentración	Tipo de métodos
Emisión	Emitida, P_e	$P_e = kc$	Emisión atómica
Luminiscencia	Luminiscente, P_l	$P_l = kc$	Fluorescencia, fosforescencia y quimioluminiscencia atómica y molecular
Dispersión	Dispersada, P_d	$P_d = kc$	Dispersión Raman, turbidimetría y nefelometría
Absorción	Incidente, P_0 , y transmitida, P	$-\log \frac{P}{P_0} = kc$	Absorción atómica y molecular

absorbancia son los dos términos que se utilizan ampliamente en la espectrometría de absorción y se relacionan por la razón de P_0 y P .

Transmitancia

La Figura 6-21 muestra un haz de radiación paralelo antes y después de atravesar un medio que tiene un espesor de b cm y una concentración c de una especie absorbente. Como consecuencia de las interacciones entre los fotones y los átomos o moléculas absorbentes, la potencia del haz disminuye de P_0 a P . La *transmitancia* T del medio es la fracción de radiación incidente transmitida por el medio:

$$T = \frac{P}{P_0} \quad (6-30)$$

La transmitancia se expresa con frecuencia como porcentaje o

$$\%T = \frac{P}{P_0} \times 100\% \quad (6-31)$$

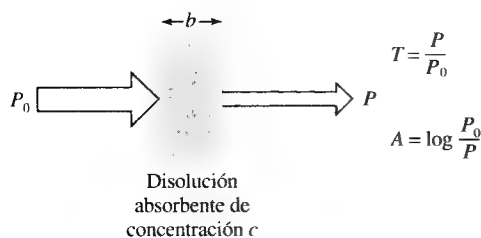


Figura 6-21. Atenuación de un haz de radiación por una disolución absorbente.

Absorbancia

La absorbancia A de un medio se define por la ecuación

$$A = -\log_{10} T = \log \frac{P_0}{P} \quad (6-32)$$

Obsérvese que, al contrario que con la transmitancia, la absorbancia de un medio aumenta cuando la atenuación del haz se hace mayor.

La ley de Beer

Para una radiación monocromática, la absorbancia es directamente proporcional al camino óptico b a través del medio y la concentración c de la especie absorbente. Estas relaciones vienen dadas por

$$A = abc \quad (6-33)$$

donde a es una constante de proporcionalidad denominada *absortividad*. La magnitud de a claramente dependerá de las unidades utilizadas para b y c . Con frecuencia para disoluciones de una especie absorbente, b se da en centímetros y c en gramos por litro. Las unidades de la absortividad en ese caso son $L \text{ g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Cuando la concentración en la Ecuación 6-32 se expresa en moles por litro y la longitud de la cubeta en centímetros, la absortividad se denomina *absortividad molar* y se representa por el símbolo

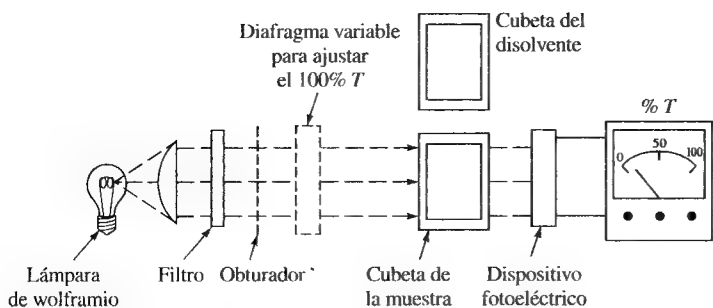


Figura 6-22. Fotómetro de haz sencillo para medidas en la región del visible.

ϵ . Así, cuando b está en centímetros y c en moles por litro,

$$A = \epsilon bc \quad (6-34)$$

donde ϵ tiene las unidades de $\text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Las Ecuaciones 6-33 y 6-34 son expresiones de la *ley de Beer*, que sirven como base para el análisis cuantitativo mediante medidas de absorción atómica y molecular. Se encuentran ciertas limitaciones en la aplicabilidad de la ley de Beer, y dichas limitaciones se estudiarán con detalle en el Apartado 13B.

Medida de la transmitancia y de la absorbancia

La Figura 6-22 muestra un esquema de un instrumento sencillo llamado fotómetro, utilizado para medir la transmitancia y la absorbancia de disoluciones acuosas con un haz seleccionado con un filtro de radiación visible. En este caso, la radiación procedente de una lámpara de wolframio atraviesa un filtro de vidrio coloreado, que sólo deja pasar una banda limitada de radiación de longitudes de onda contiguas. Posteriormente el haz pasa a través de un diafragma variable, que permite ajustar la potencia de la radiación que alcanza la cubeta transparente que contiene la muestra. Se puede colocar un obturador enfrente del diafragma para bloquear completamente la radiación. Con el ob-

turador abierto, la radiación incide sobre un dispositivo fotoeléctrico que convierte la energía radiante del haz en una corriente continua que se detecta y se mide con un microamperímetro. La señal de salida del medidor S se describe por la Ecuación 6-28. Obsérvese que el medidor tiene una escala lineal que va de 0 a 100.

Para hacer lecturas directas en tanto por ciento de transmitancia con este tipo de instrumento, se realizan dos ajustes preliminares, denominados *ajuste de la corriente oscura* o *del 0 por 100 T* y *ajuste del 100 por 100 T*. El ajuste del 0 por 100 T se realiza con el detector apantallado respecto de la fuente cerrando el obturador mecánico. Cualquier pequeña corriente oscura en el detector se anula eléctricamente hasta que la aguja del detector lea cero.

El ajuste del 100 por 100 T se realiza con el obturador abierto y con la cubeta llena del disolvente en el camino óptico. Generalmente, el disolvente está contenido en una cubeta lo más parecida posible a la cubeta que contiene la muestra. El ajuste del 100 por 100 T con este tipo de instrumento supone variar la potencia del haz por medio del diafragma variable; en algunos instrumentos, este mismo efecto se realiza variando eléctricamente la señal de salida radiante de la fuente. La potencia radiante que llega al detector varía hasta que el medidor lea exactamente 100. Efectivamente, este procedimiento ajusta P_0 en la Ecuación 6-31 al 100 por 100. Cuando el disolvente se sustituye por

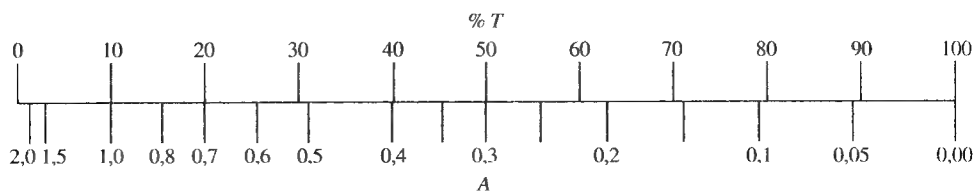


Figura 6-23. Escala de un fotómetro barato.

la cubeta que contiene la muestra, la escala indica, pues, el tanto por ciento de transmitancia directamente, como se muestra por la ecuación

$$\%T = \frac{P}{P_0} \times 100\% = \frac{P}{100\%} \times 100\% = P$$

Obviamente, una escala en absorbancias también puede estar marcada en el dispositivo de lectura. Como se muestra en la Figura 6-23, dicha escala no será lineal, a menos que la señal de salida sea transformada en una función logarítmica mediante un hardware o un software adecuados.

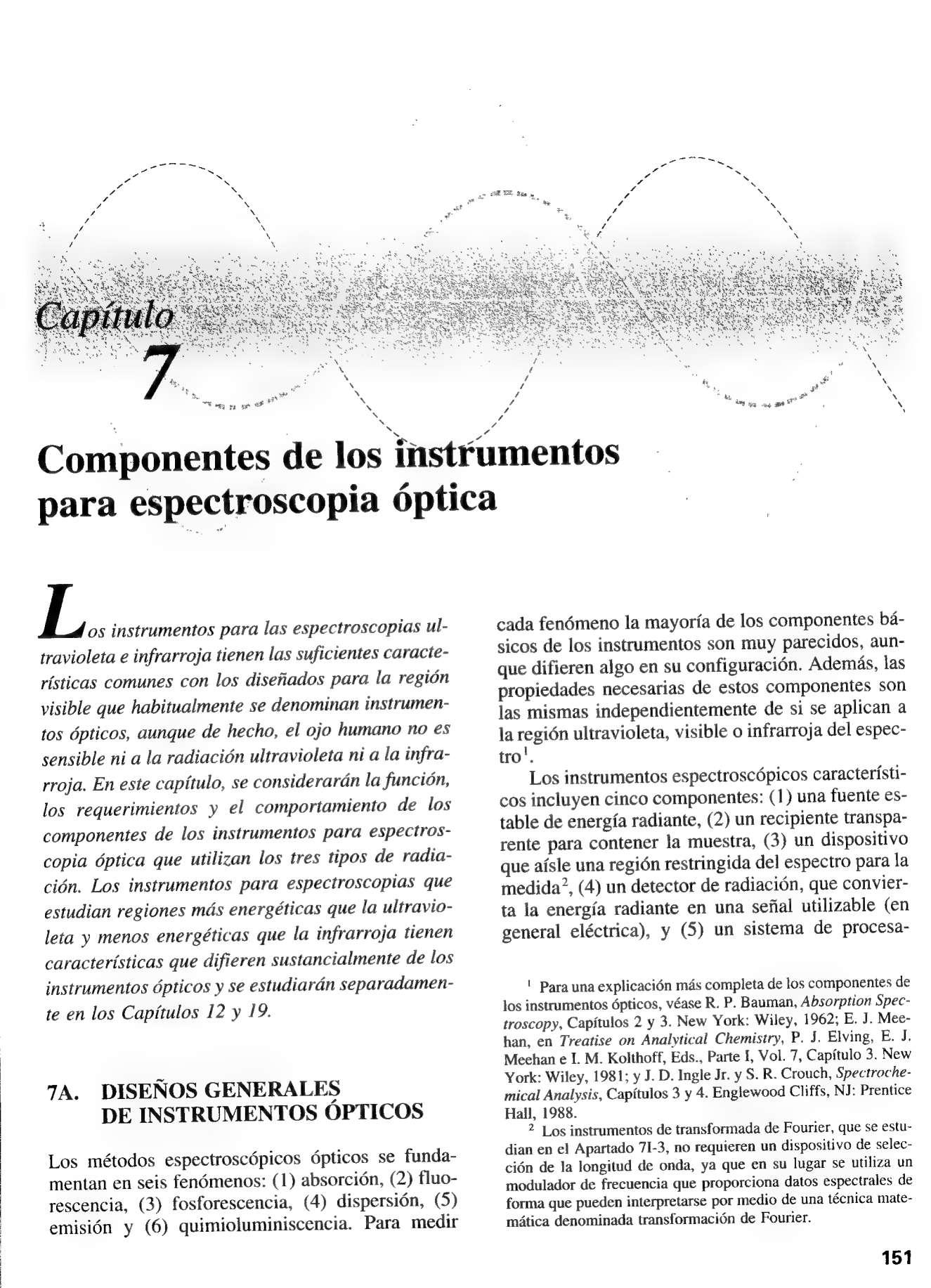
6E. CUESTIONES Y PROBLEMAS

6-1. Definir

- (a) Radiación coherente.
- (b) Dispersión de una sustancia transparente.
- (c) Dispersión refractiva anómala.
- (d) Función trabajo de una sustancia.
- (e) Efecto fotoeléctrico.
- (f) Estado fundamental de una molécula.
- (g) Excitación electrónica.
- (h) Radiación del cuerpo negro.
- (i) Fluorescencia.
- (j) Fosforescencia.
- (k) Fluorescencia de resonancia.
- (l) Fotón.
- (m) Absortividad.
- (n) Número de onda.
- (o) Relajación.
- (p) Desplazamiento de Stokes.

- 6-2. Calcular la frecuencia en hertzios, la energía en julios y la energía en electrón-voltios de un fotón de rayos X con una longitud de onda de 2,70 Å.
- 6-3. Calcular la frecuencia en hertzios, el número de onda, la energía en julios y la energía en kJ/mol asociados con la banda vibracional de absorción de 5,715 μm de una cetona alifática.
- 6-4. Calcular la longitud de onda y la energía en julios de una señal de RMN a 220 MHz.
- 6-5. Calcular la velocidad, la frecuencia y la longitud de onda de la línea D del sodio ($\lambda = 589 \text{ nm}$) cuando la luz de esta fuente atraviesa una sustancia cuyo índice de refracción, n_D es 1,43.
- 6-6. Cuando la línea D del sodio incide en una interfase aire/diamante con un ángulo de incidencia de 30,0 grados, resulta que el ángulo de refracción es 11,9 grados. ¿Cuál es el valor de n_D para el diamante?
- 6-7. ¿Cuál es la longitud de onda de un fotón que tiene tres veces más energía que otro fotón cuya longitud de onda es 500 nm?
- 6-8. La energía de enlace del yoduro de plata es aproximadamente 255 kJ/mol (el AgI es uno de los posibles componentes activos de las gafas de sol de un color gris estándar fotográfico). ¿Cuál es la longitud de onda más larga de la luz capaz de romper el enlace del yoduro de plata?
- 6-9. El cesio metálico se usa mucho en fotocélulas y en cámaras de televisión, ya que tiene la energía de ionización más pequeña de todos los elementos estables.

- (a) ¿Cuál es la energía cinética máxima de un fotoelectrón emitido por el cesio a causa de una luz de 500 nm? (Téngase en cuenta que no se emiten fotoelectrones, si la longitud de onda de la luz utilizada para irradiar la superficie del cesio es mayor de 660 nm.)
- (b) Usar la masa en reposo del electrón para calcular la velocidad del fotoelectrón del apartado (a).
- 6-10.** La ley de desplazamiento de Wien para los emisores de radiación del cuerpo negro indica que el producto de la temperatura en grados kelvin y la longitud de onda de la emisión máxima es una constante $k(k = T \cdot \lambda_{\text{máx}})$. Calcular la longitud de onda de la emisión máxima para una fuente Global infrarroja que trabaja a 1.400 K. Usar los datos de la Figura 6-18 del emisor de Nernst para determinar la constante.
- 6-11.** Calcular la longitud de onda de
- (a) La línea del sodio a 589 nm correspondiente a una disolución acuosa que tiene un índice de refracción de 1,35.
- (b) La señal de salida de un láser de rubí a 694,3 nm cuando está atravesando una pieza de cuarzo que tiene un índice de refracción de 1,55.
- 6-12.** Calcular la pérdida por reflexión cuando un haz de radiación atraviesa una cubeta de cuarzo vacía, cuyo índice de refracción es 1,55.
- 6-13.** Explicar por qué el modelo ondulatorio para la radiación no se puede considerar para el efecto fotoeléctrico.
- 6-14.** Transformar los siguientes datos de absorbancia en tanto por ciento de transmitancia:
- (a) 0,375; (b) 1,325; (c) 0,012
- 6-15.** Transformar los siguientes datos de tanto por ciento de transmitancia en absorbancias:
- (a) 33,6; (b) 92,1; (c) 1,75
- 6-16.** Calcular el tanto por ciento de transmitancia de disoluciones que presentan la mitad de los valores de absorbancia que aparecen en el Problema 6-14.
- 6-17.** Calcular la absorbancia de disoluciones que presentan la mitad de los valores de tanto por ciento de transmitancia que aparecen en el Problema 6-15.
- 6-18.** Una disolución de $4,14 \times 10^{-3}$ M en X presentó una transmitancia de 0,126 cuando se midió en una cubeta de 2,00 cm. ¿Qué concentración de X se necesitaría para que la transmitancia aumente tres veces cuando se utiliza una cubeta de 1,00 cm?
- 6-19.** Un compuesto tiene una absorptividad molar de $2,17 \times 10^3$ L cm⁻¹ mol⁻¹. ¿Qué concentración de compuesto se necesitaría para obtener una disolución que tiene una transmitancia de 8,42 por 100 en una cubeta de 2,50 cm?



Capítulo 7

Componentes de los instrumentos para espectroscopia óptica

Los instrumentos para las espectroscopias ultravioleta e infrarroja tienen las suficientes características comunes con los diseñados para la región visible que habitualmente se denominan instrumentos ópticos, aunque de hecho, el ojo humano no es sensible ni a la radiación ultravioleta ni a la infrarroja. En este capítulo, se considerarán la función, los requerimientos y el comportamiento de los componentes de los instrumentos para espectroscopia óptica que utilizan los tres tipos de radiación. Los instrumentos para espectroscopias que estudian regiones más energéticas que la ultravioleta y menos energéticas que la infrarroja tienen características que difieren sustancialmente de los instrumentos ópticos y se estudiarán separadamente en los Capítulos 12 y 19.

7A. DISEÑOS GENERALES DE INSTRUMENTOS ÓPTICOS

Los métodos espectroscópicos ópticos se fundamentan en seis fenómenos: (1) absorción, (2) fluorescencia, (3) fosforescencia, (4) dispersión, (5) emisión y (6) quimioluminiscencia. Para medir

cada fenómeno la mayoría de los componentes básicos de los instrumentos son muy parecidos, aunque difieren algo en su configuración. Además, las propiedades necesarias de estos componentes son las mismas independientemente de si se aplican a la región ultravioleta, visible o infrarroja del espectro¹.

Los instrumentos espectroscópicos característicos incluyen cinco componentes: (1) una fuente estable de energía radiante, (2) un recipiente transparente para contener la muestra, (3) un dispositivo que aisle una región restringida del espectro para la medida², (4) un detector de radiación, que convierta la energía radiante en una señal utilizable (en general eléctrica), y (5) un sistema de procesa-

¹ Para una explicación más completa de los componentes de los instrumentos ópticos, véase R. P. Bauman, *Absorption Spectroscopy*, Capítulos 2 y 3. New York: Wiley, 1962; E. J. Meehan, en *Treatise on Analytical Chemistry*, P. J. Elving, E. J. Meehan e I. M. Kolthoff, Eds., Parte I, Vol. 7, Capítulo 3. New York: Wiley, 1981; y J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, Capítulos 3 y 4. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 1988.

² Los instrumentos de transformada de Fourier, que se estudian en el Apartado 7I-3, no requieren un dispositivo de selección de la longitud de onda, ya que en su lugar se utiliza un modulador de frecuencia que proporciona datos espectrales de forma que pueden interpretarse por medio de una técnica matemática denominada transformación de Fourier.

miento y lectura de la señal, que visualice la señal detectada en una escala de medida, en una pantalla de osciloscopio, en un medidor digital o en un registrador. La Figura 7-1 ilustra las tres formas de configuración de estos componentes para realizar los seis tipos de medidas espectroscópicas anteriormente mencionadas. Como puede verse en la figura, los componentes (3), (4) y (5) se disponen de igual manera para cada uno de los tipos de medida.

Las dos primeras configuraciones instrumentales, que se usan para la medida de la absorción, fluorescencia, fosforescencia y dispersión, necesitan una fuente externa de energía radiante. Para la absorción, el haz procedente de la fuente pasa directamente de la muestra al selector de longitud de onda, aunque en algunos instrumentos la posición de la muestra y el selector se invierte. En la tercera, la fuente induce a la muestra, situada en un receptáculo, a emitir una radiación fluorescente característica, fosforescente o dispersada, que se mide generalmente a un ángulo de 90 grados respecto de la fuente.

Las espectroscopias de emisión y de quimioluminiscencia difieren de los otros tipos en que no requieren una fuente de radiación externa; la propia muestra es el emisor (véase Fig. 7-1c). En la espectroscopia de emisión, el receptáculo de la muestra es un arco, una chispa o una llama, que a la vez contiene a la muestra y le hace emitir una radiación característica. En la espectroscopia de quimioluminiscencia, la fuente de radiación es una disolución del analito más los reactivos, contenida en una cubeta de vidrio portamuestras. La emisión se produce por la energía liberada en una reacción química en la que directa o indirectamente participa el analito.

Las Figuras 7-2 y 7-3 resumen las características ópticas de todos los componentes mostrados en la Figura 7-1 excepto el sistema de procesamiento y lectura de la señal. Obsérvese que los componentes de los instrumentos difieren en los detalles, dependiendo de la región de longitudes de onda en la que se vayan a utilizar. Su diseño depende también de si el instrumento se va a usar principalmente para análisis cualitativo o cuantitativo, y de si se va

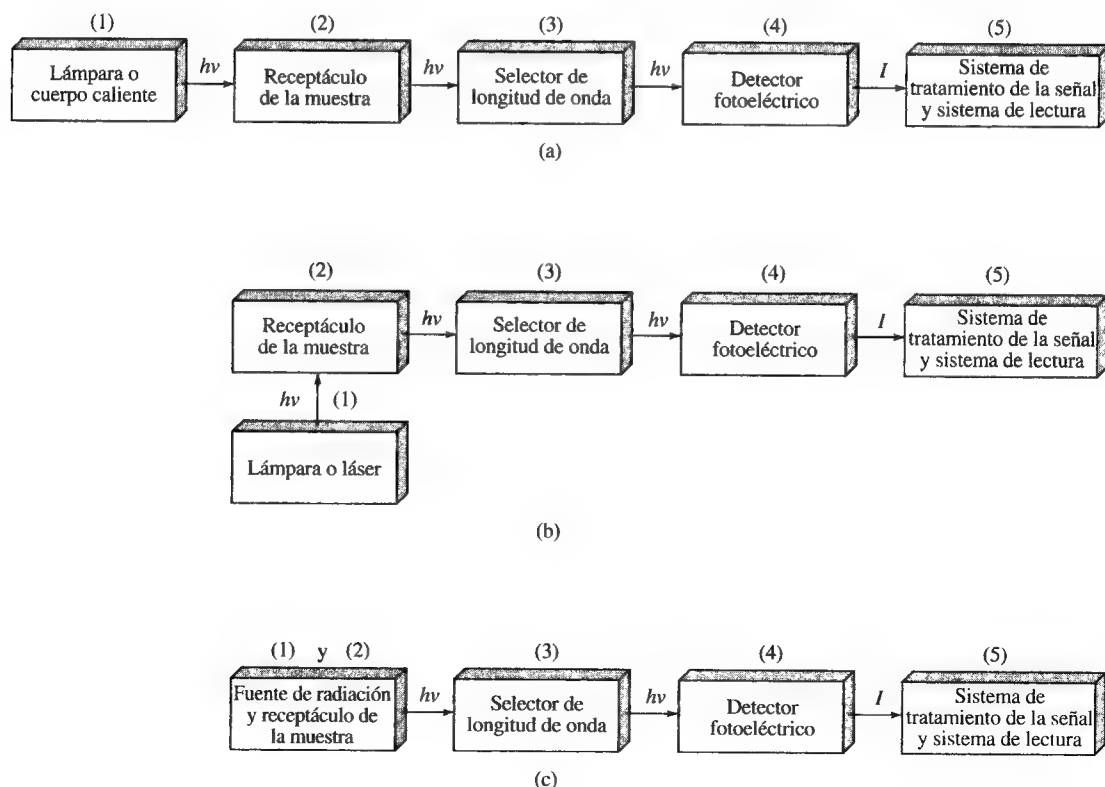


Figura 7-1. Componentes de diversos tipos de instrumentos para espectroscopia óptica: (a) de absorción; (b) de fluorescencia, fosforescencia y dispersión; (c) de emisión y quimioluminiscencia.

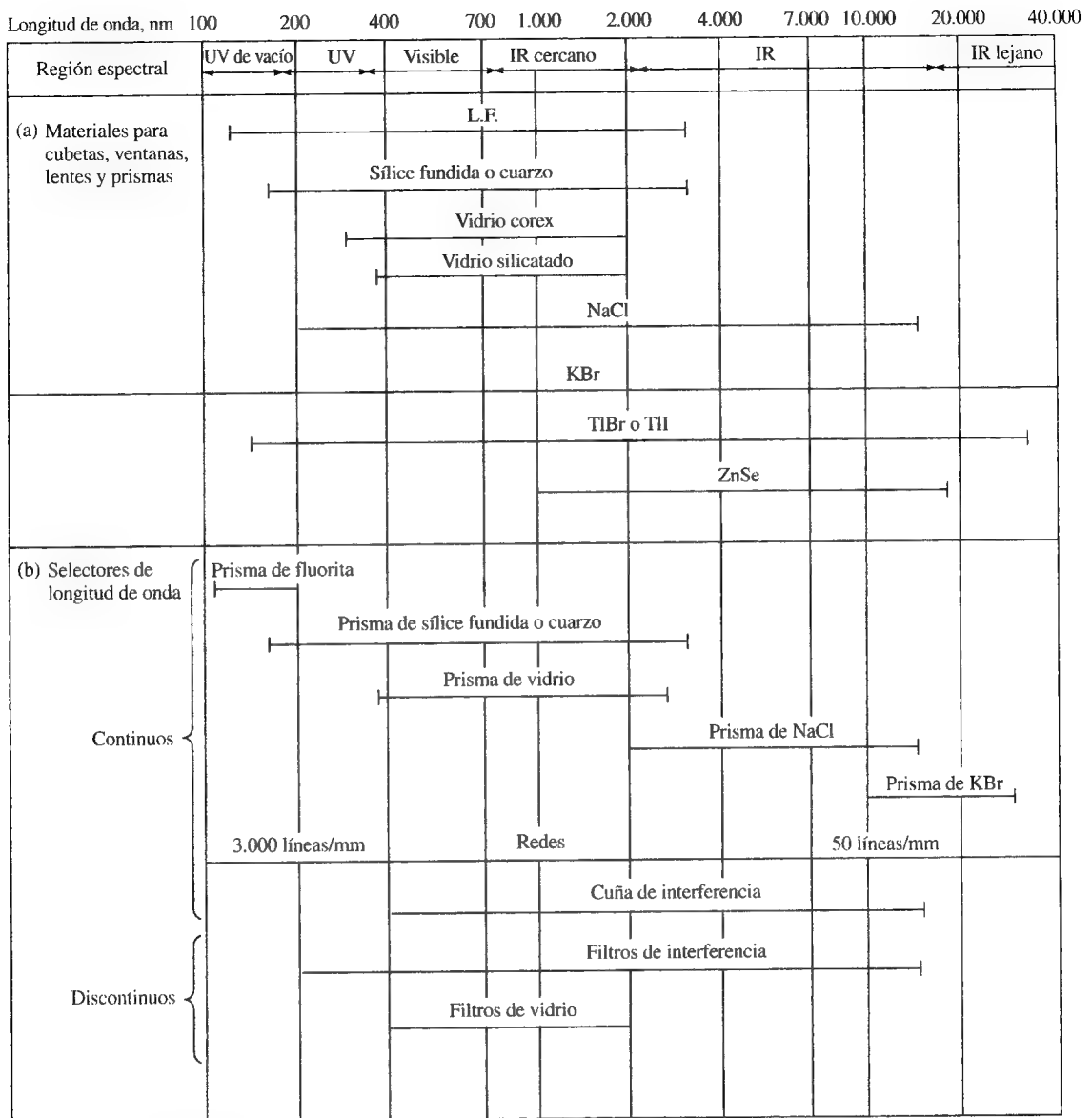


Figura 7-2. (a) Materiales de construcción y (b) selectores de longitud de onda para instrumentos espectroscópicos.

a aplicar a espectroscopia atómica o molecular. Sin embargo, la función general y las exigencias de funcionamiento de cada tipo de componente son similares, independientemente de la región de longitudes de onda y de la aplicación.

7B. FUENTES DE RADIACIÓN

Una fuente debe generar un haz de radiación con potencia suficiente para que se detecte y se mida

con facilidad para poderla utilizar en estudios espectroscópicos. Además, su potencia de salida debe ser estable durante períodos de tiempo razonables. La potencia radiante de una fuente varía exponencialmente con la tensión de su fuente de alimentación. Por ello, para proporcionar la estabilidad requerida se necesita a menudo una fuente de potencia regulada. Por otra parte, el problema de la estabilidad de la fuente se soluciona con diseños de doble haz en los que la relación de la señal de la muestra respecto a la de la fuente en ausencia de muestra

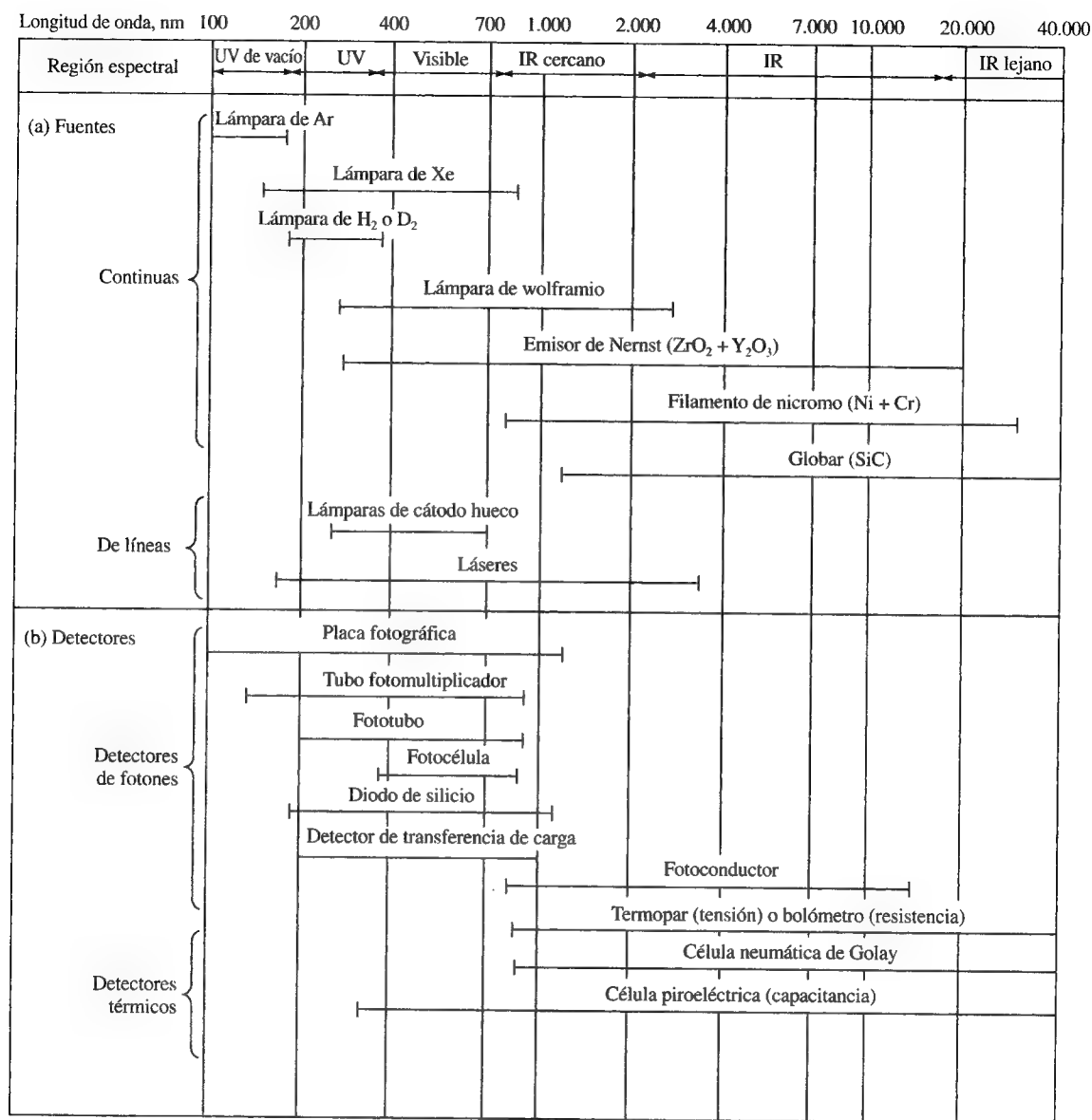


Figura 7-3. (a) Fuentes y (b) detectores para instrumentos espectroscópicos.

sirve como parámetro analítico. En dichos diseños, la intensidad de los dos haces se mide simultánea o casi simultáneamente, de manera que el efecto de las fluctuaciones de la señal de salida de la fuente se anula en gran parte.

La Figura 7-3a enumera las fuentes espectroscópicas más ampliamente utilizadas. Obsérvese que estas fuentes son de dos tipos: *fuentes continuas*, que emiten radiación cuya intensidad varía sólo de forma gradual en función de la longitud de onda, y *fuentes de líneas*, que emiten un número

limitado de líneas o bandas de radiación, cada una de las cuales abarca un intervalo limitado de longitudes de onda.

7B-1. Fuentes continuas

Las fuentes continuas se usan ampliamente en espectroscopia de absorción y de fluorescencia. La fuente más común para la región ultravioleta es la lámpara de deuterio. Cuando se precisa una fuente

particularmente intensa, se utilizan lámparas de arco llenas de un gas, argón, xenón o mercurio, a alta presión. Para la región visible del espectro, la lámpara de filamento de wolframio se usa casi universalmente. Las fuentes de infrarrojo más comunes son sólidos inertes calentados a 1.500-2.000 K, temperatura a la cual la máxima emisión radiante se produce entre 1,5 y 1,9 μm (véase Fig. 6-18). Detalles sobre la estructura y el comportamiento de las diversas fuentes continuas se encontrarán en el capítulo que trata de los tipos específicos de métodos espectroscópicos.

7B-2. Fuentes de líneas

Las fuentes que emiten pocas líneas discretas son muy utilizadas en espectroscopia de absorción atómica, en espectroscopia de fluorescencia atómica y molecular y en espectroscopia Raman (la refractometría y la polarimetría también emplean fuentes de líneas). Las lámparas de vapor de mercurio y de sodio, utilizadas en distintos instrumentos espectroscópicos, proporcionan relativamente pocas líneas agudas en la región ultravioleta y visible. Las lámparas de cátodo hueco y las lámparas de descarga sin electrodos son las fuentes de líneas más importantes para los métodos de absorción atómica y de fluorescencia. La explicación de estas fuentes se encuentra en el Apartado 9B-1.

7B-3. Láseres

Los láseres son fuentes muy útiles en la instrumentación analítica debido a su elevada intensidad, a su estrecha anchura de banda y a la naturaleza coherente de su señal de salida³. El primer láser se construyó en 1960. Desde entonces, los químicos han encontrado muchas aplicaciones de estas fuentes en espectroscopia de alta resolución, en estudios cinéticos de procesos con tiempos de vida en el intervalo de 10^{-9} - 10^{-12} s, en la detección y determinación de concentraciones extremadamente pequeñas de especies en la atmósfera, y en la inducción

de reacciones isotópicamente selectivas⁴. Además, los láseres tienen importancia en diversos métodos analíticos de rutina, como la espectroscopia Raman, la espectroscopia de absorción molecular, la espectroscopia de emisión y formando parte de los instrumentos en espectroscopia de infrarrojo de transformada de Fourier.

El término *láser* es un acrónimo de «light amplification by stimulated emission of radiation» (amplificación de luz mediante la emisión estimulada de radiación). Debido a sus propiedades amplificadoras de la luz, los láseres originan haces de radiación estrechos (unas pocas centésimas de micrómetro) y sumamente intensos. El proceso de emisión estimulada, que se describirá brevemente, origina un haz de radiación muy monocromático (anchuras de banda de 0,01 nm o menos) y muy coherente (Apartado 6B-6). Debido a estas propiedades singulares, los láseres se han convertido en fuentes bastante utilizadas en la región ultravioleta, visible e infrarrojo del espectro. Una limitación de los primeros láseres consistía en que la radiación de una fuente dada quedaba restringida a pocas líneas o longitudes de onda discretas. Sin embargo, hoy en día, se puede disponer de láseres de colorantes que proporcionan bandas estrechas de radiación de cualquier longitud de onda seleccionada dentro de un intervalo relativamente limitado de la fuente.

Componentes de los láseres

En la Figura 7-4 se representan esquemáticamente los componentes de una fuente de láser característica. La parte más importante de este dispositivo es el medio capaz de generar el láser. Puede ser un cristal sólido como el rubí, un semiconductor como el arseniuro de galio, una disolución de un colorante orgánico, o un gas como argón o criptón. El material láser a menudo se activa, o *bombea*, por medio de una radiación procedente de una fuente externa, de modo que algunos fotones de energía adecuada desencadenen la formación de una cascada de fotones de igual energía. El bombeo también se puede realizar con una corriente eléctrica o con una descarga eléctrica. Así, los láseres de gas no

³ Para una discusión más completa sobre los láseres, véase J. Wilson y J. F. B. Hawkes, *Lasers: Principles and Applications*. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1987; D. L. Andrews, *Lasers in Chemistry*. New York: Springer-Verlag, 1986; *Laser Spectroscopy and Its Applications*, L. Radziemski, R. Solarz, y J. Paisner, Eds. New York: Marcel Dekker, 1987; *Applications of Lasers*, E. Piepmeier, Ed. New York: Wiley, 1986.

⁴ Para revisiones de algunas de estas aplicaciones, véase J. C. Wright y M. J. Wirth, *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 988A, 1087A; A. Schawlow, *Science*, **1982**, 217, 9; E. W. Findsend y M. R. Ondrias, *J. Chem. Educ.*, **1986**, 63, 479; R. N. Zare, *Science*, **1984**, 226, 1198; C. P. Christensen, *Science*, **1984**, 224, 117; J. K. Steehler, *J. Chem. Educ.*, **1990**, 67, A37.

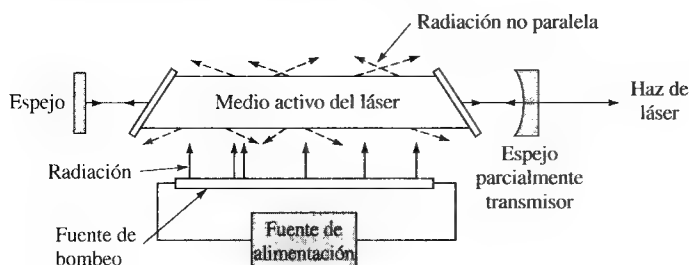


Figura 7-4. Representación esquemática de una fuente de láser típica.

suelen tener la fuente de radiación externa que se muestra en la Figura 7-4; en su lugar, la fuente de alimentación se conecta a un par de electrodos introducidos en una celda rellena con el gas.

En general, un láser funciona como un oscilador, o un resonador, en el sentido de que a la radiación producida por el funcionamiento del láser se la obliga a pasar muchas veces a través del medio en ambos sentidos con la ayuda de un par de espejos, tal como se muestra en la Figura 7-4. En cada recorrido se generan fotones adicionales, lo que da lugar a una gran amplificación. El paso repetido produce también un haz muy paralelo, ya que la radiación no paralela escapa por los lados del medio después de reflejarse unas pocas veces (véase Figura 7-4). Una de las formas más fáciles de obtener un haz láser adecuado, es recubrir uno de los espejos con una capa suficientemente delgada de material reflectante, de forma que una fracción del haz se transmita en lugar de reflejarse.

Mecanismo de funcionamiento del láser

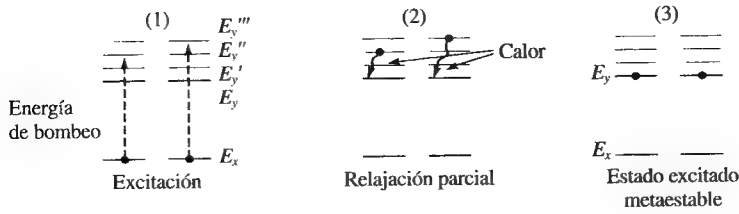
El funcionamiento de un láser se puede comprender si se consideran los cuatro procesos indicados en la Figura 7-5, denominados: (a) bombeo, (b) emisión espontánea (fluorescencia), (c) emisión estimulada y (d) absorción. En dicha figura, se muestra el comportamiento de dos de las muchas moléculas que constituyen el medio láser. Sólo se muestran dos de los diferentes niveles electrónicos de energía de cada una de esas dos moléculas con energías E_y y E_x . Obsérvese que el estado electrónico superior de cada molécula posee varios niveles de energía vibracional ligeramente diferentes, señalados como E_y, E'_y, E''_y y así sucesivamente. No se han representado niveles adicionales para el estado electrónico inferior, aunque habitualmente existen.

una descarga eléctrica, por el paso de una corriente eléctrica, o por la exposición a una fuente radiante intensa. Durante el bombeo, se poblarán varios de los niveles de energía electrónicos y vibracionales más altos de la especie activa. En el diagrama (1) de la Figura 7-5a, una molécula se promociona a un estado de energía E'_y ; la segunda se excita al nivel vibracional E''_y ligeramente superior. El tiempo de vida de los estados *vibracionales* excitados es corto, y después de unos 10^{-13} a 10^{-15} s, se produce una relajación al nivel vibracional excitado más bajo [E_y en el diagrama a(3)] a la vez que se genera una cantidad indetectable de calor. Algunos estados electrónicos excitados de materiales láser tienen tiempos de vida bastante más largos (a menudo 1 ms o más) que sus equivalentes vibracionales excitados; por ello, los estados de vida larga se denominan, a veces, *metaestables*.

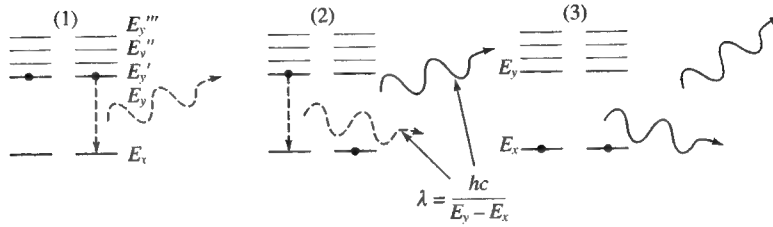
Emisión espontánea. Como ya se indicó en la explicación de la fluorescencia (página 145), una especie en un estado electrónico excitado puede perder total o parcialmente su exceso de energía por emisión espontánea de radiación. Este proceso se representa en los tres diagramas de la Figura 7-5b. Obsérvese que la longitud de onda de la radiación fluorescente viene dada por la relación $\lambda = hc/(E'_y - E_x)$, donde h es la constante de Planck y c es la velocidad de la luz. Hay que resaltar que el instante en el que se produce la emisión y la trayectoria del fotón resultante varían de una a otra molécula excitada, debido a que la emisión espontánea es un proceso aleatorio; así pues, tal como se muestra en la Figura 7-5, la radiación fluorescente producida por una de las especies del diagrama b(1) difiere en dirección y fase de la producida por la segunda especie [diagrama b(2)]. Por tanto, la emisión espontánea origina una radiación monocromática *incoherente*.

Emisión estimulada. En la Figura 7-5c se representa la emisión estimulada, que es la base del

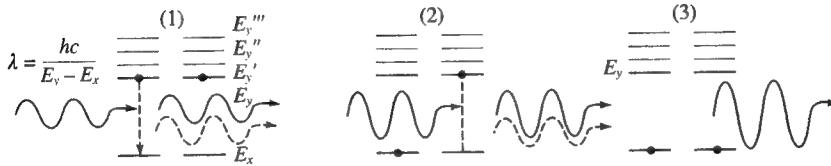
Bombeo. El bombeo, que es necesario para el funcionamiento del láser, es un proceso en el que la especie activa de un láser se excita por medio de



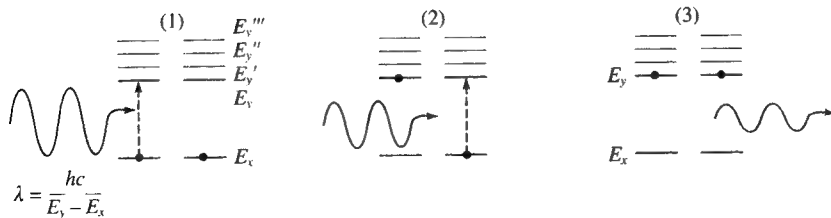
(a) Bombeo (excitación mediante energía eléctrica, radiante o química)



(b) Emisión espontánea



(c) Emisión estimulada



(d) Absorción

Figura 7-5. Cuatro procesos importantes para el funcionamiento de un láser: (a) bombeo (excitación mediante energía eléctrica, radiante o química), (b) emisión espontánea, (c) emisión estimulada y (d) absorción.

comportamiento del láser. En este caso, las especies del láser excitadas son alcanzadas por fotones que poseen exactamente la misma energía ($E_y - E_x$) que los fotones producidos por emisión espontánea.

Las colisiones de este tipo producen la inmediata relajación de la especie excitada al estado energético inferior y, al mismo tiempo, la emisión de un fotón de exactamente la misma energía que

la del fotón que estimuló el proceso. Igualmente importante, el fotón emitido *se propaga exactamente en la misma dirección y está precisamente en fase* con el fotón que desencadenó la emisión. Por tanto, la emisión estimulada presenta una total *coherencia* con la radiación de entrada.

Absorción. El proceso de absorción, que compite con la emisión estimulada, se representa en la Figura 7-5d. En este caso, se absorben dos fotones con energías exactamente iguales a $(E_y - E_x)$ para originar el estado excitado metaestable mostrado en el diagrama d(3); obsérvese que el estado de este diagrama es idéntico al alcanzado por bombeo en el diagrama a(3).

Inversión de la población y amplificación de la luz

Para amplificar la luz de un láser, es necesario que el número de fotones producidos por emisión estimulada supere el número de los que se han perdido por absorción. Esta condición sólo se mantendrá si el número de partículas en el estado de energía superior excede al número en el inferior; en otras palabras, debe existir una *inversión de la población* respecto a la distribución normal de estados de energía. Las inversiones de población se producen por bombeo. En la Figura 7-6 se compara el efecto de la radiación de entrada sobre una población no invertida con la de una invertida. En ambos casos, dichas poblaciones están compuestas por nueve moléculas del medio láser. En el sistema no invertido, tres de las moléculas están en el estado excitado y seis en el nivel de energía inferior. El medio

absorbe tres de los fotones de entrada, originándose así tres nuevas moléculas excitadas. Sin embargo, la radiación estimula también la emisión de dos fotones de las moléculas excitadas. Por tanto, el haz queda disminuido en un fotón. Como se ve en la Figura 7-6b, hay una ganancia neta de fotones en el sistema invertido, ya que la emisión estimulada progresa en mayor grado que la absorción.

Sistemas láser de tres y cuatro niveles

La Figura 7-7 muestra los diagramas de niveles de energía simplificados de los dos tipos habituales de sistemas láser. En el sistema de tres niveles, la transición responsable de la radiación láser se produce entre un estado excitado E_y y el estado fundamental E_0 ; por otro lado, en un sistema de cuatro niveles, la radiación se genera por una transición desde el estado E_y al estado E_x que tiene una energía superior a la del estado fundamental. Además, es necesario que las transiciones entre E_x y el estado fundamental sean rápidas. La ventaja del sistema de cuatro niveles reside en que las inversiones de población necesarias para el funcionamiento del láser se logran con mayor facilidad. Para entender este hecho, obsérvese que a temperatura ambiente una gran mayoría de las especies del láser estarán, en ambos sistemas, en el nivel de energía del estado fundamental E_0 . Por tanto, se debe proporcionar suficiente energía para llevar a más del 50 por 100 de las especies del láser al nivel E_y en un sistema de tres niveles. Por el contrario, sólo es necesario bombear suficientemente para lograr que el número de partículas en el nivel de energía E_y exceda al número de partículas en el E_x en un sistema de cua-

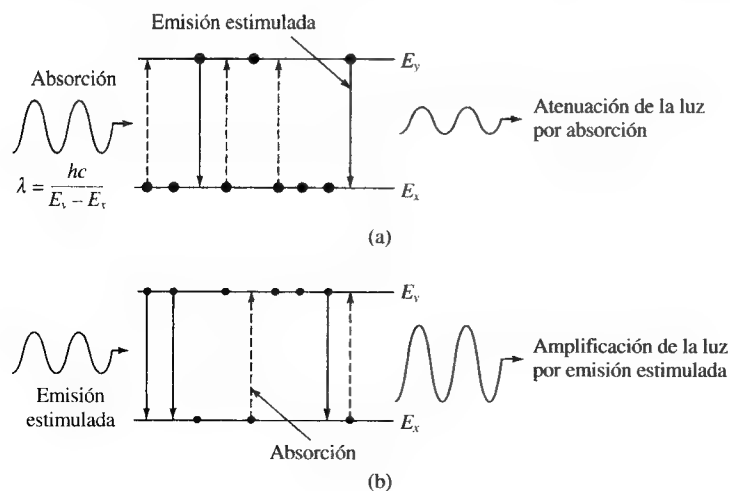


Figura 7-6. Paso de radiación a través de (a) una población no invertida y (b) una población invertida.

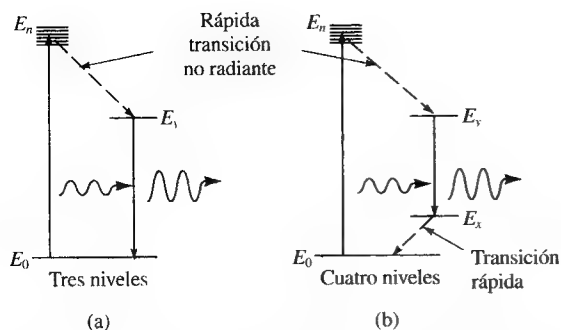


Figura 7-7. Diagramas de niveles de energía para dos tipos de sistemas láser.

tro niveles. Sin embargo, el tiempo de vida de una partícula en el estado E_x es corto, porque la transición hasta E_0 es rápida; así, el número de ellas en el estado E_x , en general, será despreciable en comparación con las que tienen energía E_0 y también respecto al número en el estado E_y (en condiciones de una entrada moderada de energía de bombeo). Por tanto, el láser de cuatro niveles suele conseguir una inversión de la población con un pequeño gasto de energía de bombeo.

Algunos ejemplos de láseres útiles⁵

Láseres de estado sólido. El primer láser que tuvo éxito, y uno de los que todavía se utiliza ampliamente, fue un dispositivo de tres niveles en el que el medio activo era un cristal de rubí. El rubí es mayoritariamente Al_2O_3 , pero contiene aproximadamente un 0,05 por 100 de cromo(III), distribuido entre la red en lugar del aluminio(III), el cual es responsable de su color rojo. Los iones cromo(III) son el material activo del láser. En los primeros láseres, al rubí se le daba forma de un tubo cilíndrico de unos 4 cm de longitud por 0,5 cm de diámetro. Alrededor del tubo cilíndrico se enrollaba un tubo de destello (con frecuencia una lámpara de xenón de baja presión) que daba lugar a intensos destellos de luz ($\lambda = 694,3 \text{ nm}$). Dado que el bombeo era discontinuo, se obtenía un haz pulsado. Hoy en día, se dispone de fuentes de rubí de onda continua.

El láser de Nd:YAG es uno de los láseres de estado sólido más usados. Consiste en un ion de neodimio alojado en un cristal de granate de alumi-

nio e itrio. Este sistema ofrece la ventaja de ser un láser de cuatro niveles, lo cual facilita mucho más la inversión de población que el láser de rubí. El láser de Nd:YAG tiene una salida de potencia radiante muy elevada a 1.064 nm , cuya frecuencia se duplica habitualmente (véase la página 163) para dar una línea intensa a 532 nm . Esta radiación se usa a menudo para bombear láseres de colorantes sintonizables.

Láseres de gases. Se comercializan cuatro tipos de láseres de gases: (1) láseres de átomos neutros como He/Ne, (2) láseres de iones en los que las especies activas son Ar^+ o Kr^+ , (3) láseres moleculares en los que el medio láser es CO_2 o N_2 y (4) láseres de excímeros. El láser de helio/neón es el más utilizado de todos ellos, debido a su bajo coste inicial y de mantenimiento, a su gran fiabilidad y a su bajo consumo de potencia⁶. Su línea de salida más importante es la de $632,8 \text{ nm}$. En general funciona más en modo continuo que en modo pulsado.

Un ejemplo importante de láser de iones es el de ion argón, que produce líneas intensas en las regiones del verde ($514,5 \text{ nm}$) y del azul ($488,0 \text{ nm}$). Este láser es un dispositivo de cuatro niveles, en el que los iones argón se forman mediante una descarga eléctrica o de radiofrecuencia. La energía de entrada necesaria es elevada, ya que primero se deben ionizar los átomos de argón y después excitar desde el estado fundamental, cuyo número cuántico principal es 3, a diversos estados $4p$. La actividad del láser se produce cuando los iones excitados se relajan al estado $4s$. El láser de ion argón se utiliza como fuente en espectroscopia de fluorescencia y Raman, debido a la gran intensidad de sus líneas.

El láser de N_2 , que debe funcionar en modo pulsado porque el bombeo se realiza con una fuente de chispa de alta tensión, proporciona una radiación intensa a $337,1 \text{ nm}$. Esta señal de salida se usa en muchos casos para excitar la fluorescencia de diferentes moléculas y para bombear láseres de colorantes. El láser de gas de CO_2 se utiliza para generar una radiación infrarroja monocromática a $10,6 \mu\text{m}$.

Los láseres de excímeros contienen una mezcla gaseosa de helio, flúor y uno de los gases nobles (argón, criptón o xenón). Una corriente eléctrica excita electrónicamente al gas noble, tras lo cual reacciona con el flúor para formar especies excita-

⁵ Para una revisión de los láseres que se utilizan en química analítica, véase J. C. Wright y M. J. Wirth, *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 1087A.

⁶ Para detalles sobre el diseño de láseres comerciales de He/Ne, véase B. Patel, *Photonics Spectra*, **1983** (1), 33.

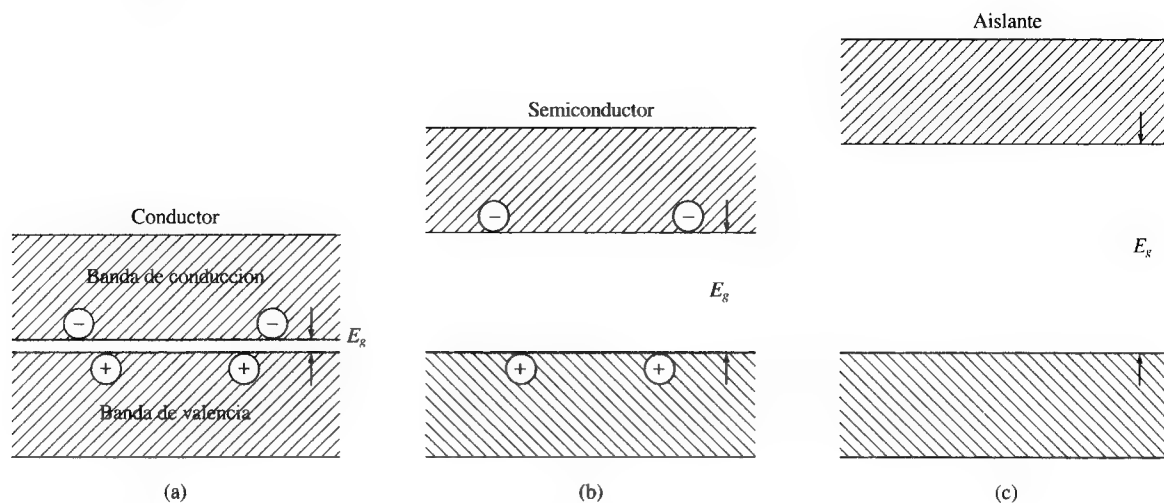


Figura 7-8. Bandas de conducción y bandas de valencia en los tres tipos de materiales.

das como ArF, KrF o XeF, que se denominan *excímeros*, ya que son estables sólo en el estado excitado. Como el estado fundamental del excímero es inestable, se produce una rápida disociación de los compuestos cuando se relajan emitiendo un fotón. Por tanto, la inversión de la población existe mientras continúe el bombeo. Los láseres de excímeros producen pulsos de elevada energía en el ultravioleta (351 nm para XeF, 248 nm para KrF y 193 nm para ArF).

Láseres de colorantes⁷. Los láseres de colorantes se han convertido en importantes fuentes de radiación en química analítica, ya que se sintonizan de forma continua dentro de un intervalo de 20 a 50 nm. La anchura de banda característica de un láser sintonizable es de pocas centésimas de nanómetro o menos. Los materiales activos de los láseres de colorantes son disoluciones de compuestos orgánicos que fluorescen en la región ultravioleta, visible o infrarroja. Los láseres de colorantes son sistemas de cuatro niveles. Sin embargo, a diferencia de los demás láseres de este tipo que se han estudiado, el nivel de energía inferior para el funcionamiento del láser (E_x en Fig. 7-7b) no es una única energía sino una banda de energías que surge de la superposición de un gran número de estados de energía vibracional y rotacional muy próximos

entre sí sobre el estado de energía electrónico base. Los electrones en E_y pueden originar, por tanto, transiciones a cualquiera de estos estados, produciendo así fotones de energías ligeramente diferentes. La sintonización de los láseres de colorantes puede lograrse fácilmente reemplazando el espejo no transmisor de la Figura 7-4 por un monocromador equipado con una red de reflexión o con un prisma de tipo Littrow (véase Fig. 7-16), que sólo refleja al medio láser un estrecho ancho de banda de la radiación; la longitud de onda del pico se puede variar por rotación de la red o del prisma. En ese caso, la emisión sólo se estimula para una parte del espectro de fluorescencia, es decir, a la longitud de onda seleccionada por el monocromador.

Láser de diodos semiconductor⁸. El láser de diodos es una nueva fuente de radiación casi monocromática de importancia creciente. Los diodos del láser son productos de la moderna tecnología de los semiconductores. Su mecanismo de funcionamiento se puede entender si se tienen en cuenta las características de la conducción eléctrica de los distintos materiales, como se ilustra en la Figura 7-8. Un buen conductor, como un metal, presenta una disposición regular de átomos rodeados de una nube de electrones de valencia. Los orbitales de los

⁷ Para más información, véase R. B. Green, *J. Chem. Educ.*, **1977**, 54, A365, A407; M. J. Wirth, *Tunable Laser Systems in Lasers in Chemical Analysis*, G. M. Hieftje, J. C. Travis, y F. E. Lytle, Eds. Clifton, NJ: Humana Press, 1981.

⁸ M. G. D. Bauman, J. C. Wright, A. B. Ellis, T. Kuech, y G. C. Lisensky, *J. Chem. Educ.*, **1992**, 69, 89; T. Imasaka y N. Ishibashi, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 363 A; R. L. Beyer, *Science*, **1989**, 239, 742; K. Niemax, A. Zybin, C. Schnürer-Patschan, y H. Groll, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 351 A.

átomos contiguos se solapan formando la denominada *banda de valencia*, que, en esencia, es un orbital molecular que cubre por entero al metal y que contiene los electrones de valencia de todos los átomos. Los orbitales externos vacíos se solapan para formar la *banda de conducción*, que presenta una energía ligeramente superior a la de la banda de valencia. La diferencia de energía entre la banda de valencia y la banda de conducción es la energía del espacio entre bandas, E_g . Como la energía del espacio entre bandas es tan pequeña en los conductores (véase Fig. 7-8a), los electrones de la banda de valencia adquieren fácilmente la suficiente energía térmica para promocionar a la banda de conducción, y así producir portadores de carga móvil para la conducción.

Por el contrario, los aislantes tienen una energía del espacio entre bandas relativamente elevada, y por ello, los electrones de la banda de valencia son incapaces de adquirir la suficiente energía térmica como para conseguir la transición a la banda de conducción, y, por ello, los aislantes no conducen la electricidad (véase Fig. 7-8c). Los semiconductores, como el silicio o el germanio, tienen energías del espacio entre bandas intermedias, y en consecuencia, sus propiedades conductoras son intermedias entre los conductores y los aislantes (véase Fig. 7-8b). Se debería resaltar que el que un material sea semiconductor o aislante no depende únicamente de la energía del espacio entre bandas sino también de la temperatura de funcionamiento y de la energía de excitación del material, que está relacionado con el potencial aplicado al material.

Cuando se aplica un potencial a través del diodo semiconductor hacia delante (véase el Apartado 2C-2), los electrones se excitan y pasan a la banda de conducción, creándose pares de huecos de electrones, y el diodo conduce la electricidad. Finalmente, algunos de estos electrones se relajan

y vuelven a la banda de valencia, liberando una energía que corresponde a la energía del espacio entre bandas $E_g = h\nu$. Parte de la energía se libera en forma de radiación electromagnética con una frecuencia $\nu = E_g/h$. Los diodos que se fabrican para mejorar la producción de luz se denominan *diodos emisores de luz*, o LED. Los diodos emisores de luz se fabrican a menudo con arseniuro de galio dopado con fósforo, que tiene una energía del espacio entre bandas que corresponde a una longitud de onda de 660 nm. Los diodos de este tipo se utilizan ampliamente como indicadores y sistemas de lectura en instrumentos electrónicos. Desafortunadamente, debido a su relativa baja intensidad y a la emisión de longitudes de onda en el rojo e infrarrojo, los LED son de limitada utilidad en espectroscopia.

En los últimos años las técnicas de fabricación de semiconductores han progresado hasta tal extremo que han permitido construir dispositivos integrados muy complejos como el diodo láser reflector de Bragg distribuido (DBR) mostrado en la Figura 7-9. Este dispositivo contiene un diodo de unión *pn* de arseniuro de galio que produce una radiación infrarroja aproximadamente a 975 nm. Además, se fabrica en el chip una banda de material que actúa como una cavidad resonante para la radiación, de manera que se pueda producir la amplificación de la luz dentro de ella. Una red integrada proporciona la realimentación en la cavidad resonante para que la radiación resultante tenga una anchura de banda extremadamente estrecha, de unos 10^{-5} nm. Con este tipo de diodos del láser se han conseguido señales de salida de potencia continua de más de 100 mW con una estabilidad térmica característica de $0,1 \text{ nm}/^\circ\text{C}$. Los diodos del láser pueden funcionar tanto en modo pulsado como continuo (CW), lo que aumenta su versatilidad para distintas aplicaciones. El rápido desarrollo de estos diodos se ha producido como consecuencia

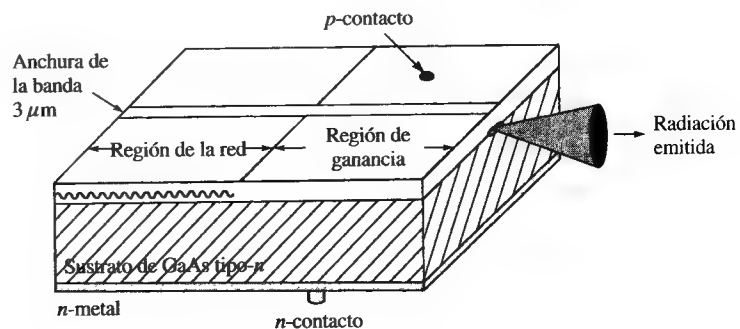


Figura 7-9. Diodo láser reflector de Bragg distribuido. (De D. W. Nam y R. G. Waarts, *Laser Focus World*, 1994, 30(8), 52. Reproducción autorizada.)

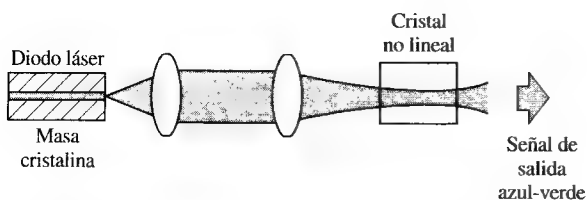


Figura 7-10. Sistema duplicador de frecuencia para convertir la señal de salida de un láser de 975 nm a 490 nm. (De D. W. Nam y R. G. Waarts, *Laser Focus World*, 1994, 30(8), 52. Reproducción autorizada.)

de su utilización como fuentes de luz para los lectores de discos compactos, unidades CD-ROM, escáners para códigos de barras y otros dispositivos optoelectrónicos corrientes, y la fabricación masiva de diodos del láser garantiza que su precio continuará disminuyendo.

La principal dificultad en el uso de los diodos del láser en aplicaciones espectroscópicas es su limitado intervalo de longitudes de onda en la región espectral del rojo y del infrarrojo. Esta desventaja se ha superado trabajando con el diodo láser en modo pulsado para conseguir la suficiente potencia del pico para utilizar ópticas no lineales que proporcionan una frecuencia duplicada tal como se muestra en la Figura 7-10. En este caso, la señal de salida de un diodo láser se focaliza en un cristal duplicador, que produce una señal de salida en la región del azul-verde del espectro (~ 490 nm). Los diodos del láser de frecuencia duplicada pueden conseguir potencias de salida promedio de 0,5 a 1,0 W con un intervalo espectral sintonizable de unos 30 nm, con la óptica externa adecuada. Dichas fuentes de luz tienen las siguientes ventajas: solidez, alta eficacia, elevada fiabilidad y robustez. Si se incorpora una óptica externa al diodo del láser incrementa sustancialmente el precio de los dispositivos, pero los hace competitivos frente a los láseres de gases, más grandes, menos eficaces y menos fiables.

Recientemente, se ha publicado que el diodo láser de nitruro de galio produce radiación directamente en la región espectral del azul, verde y amarillo⁹. Estos diodos deberían ser útiles para estudios espectroscópicos.

Se ha demostrado la utilidad de los diodos del láser para aplicaciones en espectrometría de absorción molecular, en la espectrometría de fluorescencia molecular, en la espectrometría de absorción atómica y como fuentes de luz para detectores en

distintos métodos cromatográficos. A medida que se vayan comercializando más láseres de diodo, indudablemente se irán generalizando como fuentes de luz en los sistemas espectrométricos comerciales.

Efectos ópticos no lineales con láseres

Tal como se señaló en el Apartado 6B-7, cuando una onda electromagnética se propaga a través de un medio dieléctrico¹⁰, el campo electromagnético de la radiación origina una distorsión momentánea, o polarización, de los electrones de valencia de las moléculas que constituyen el medio. Para una radiación ordinaria, el grado de polarización P es directamente proporcional a la magnitud del campo eléctrico E de la radiación. Por tanto, se puede escribir

$$P = \alpha E$$

donde α es la constante de proporcionalidad. Los fenómenos ópticos que ocurren cuando prevalece esta situación se dice que son *lineales*.

Esta relación se incumple para la elevada intensidad de radiación que producen los láseres, en particular cuando E se aproxima a la energía de enlace de los electrones. En estas circunstancias, se observan *efectos ópticos no lineales* en los que la relación entre la polarización y el campo eléctrico viene dada por la ecuación

$$P = \alpha E + \beta E^2 + \gamma E^3 + \dots \quad (7-1)$$

en la que el valor de las tres constantes sigue el orden $\alpha > \beta > \gamma$. A la intensidad normal de la radiación, sólo es significativo el primer término de la derecha, y la relación entre la polarización y la fuerza del campo es lineal. Sin embargo, para describir el grado de polarización en los láseres de elevada intensidad se necesita el segundo término y, a veces, incluso el tercero. En el caso de que sólo se precisen dos términos, la Ecuación 7-1 se puede expresar en función de la frecuencia de la radiación ω y de la máxima amplitud de la fuerza del campo E_m . Así,

$$P = \alpha E_m \sin \omega t + \beta E_m^2 \sin^2 \omega t \quad (7-2)$$

¹⁰ Los dieléctricos son un tipo de sustancias no conductoras, ya que no contienen electrones libres. En general, los dieléctricos son ópticamente transparentes, al revés que los sólidos conductores de la electricidad, que o bien absorben la radiación o la reflejan fuertemente.

⁹ G. Fasol, *Science*, 1996, 272, 1751.

Sustituyendo la expresión trigonométrica $\sin^2 \omega t = \frac{1}{2} (1 - \cos 2\omega t)$ resulta

$$P = \alpha E_m \sin \omega t + \frac{\beta E_m^2}{2} (1 - \cos 2\omega t) \quad (7-3)$$

El primer término de la Ecuación 7-3 es el término lineal que predomina a intensidades bajas de radiación. A una intensidad suficientemente elevada, el término de segundo grado resulta significativo y se obtiene una radiación de frecuencia 2ω , que es *doble* que la de la radiación incidente. Este proceso de duplicación de la frecuencia se utiliza mucho en la actualidad para originar frecuencias de láser de longitudes de onda más cortas. Por ejemplo, la radiación del infrarrojo cercano de 1.064 nm de un láser de Nd:YAG puede duplicar su frecuencia para obtener un 30 por 100 de radiación verde a 532 nm cuando la radiación atraviesa un material cristalino como el dihidrógeno fosfato de potasio. La radiación de 532 nm se puede duplicar de nuevo para originar una radiación ultravioleta de 266 nm atravesando un cristal de dihidrógeno fosfato de amonio.

La radiación de fuentes láser se está empezando a aplicar en distintas clases de espectroscopia no lineal, en especial, en espectroscopia Raman (véase el Apartado 18D-3).

7C. SELECTORES DE LONGITUD DE ONDA

Para la mayoría de análisis espectroscópicos, se necesita una radiación constituida por un grupo limitado, estrecho y continuo de longitudes de onda denominado *banda*¹¹. Una anchura de banda estrecha aumenta la sensibilidad de las medidas de absorbancia, puede proporcionar selectividad tanto a los métodos de absorción como a los de emisión y, con frecuencia, es un requisito para obtener una relación lineal entre la señal óptica y la concentración (Ecuación 6-34). Idealmente, la señal de salida de un selector de longitud de onda correspondería a una radiación de una única longitud de onda o frecuencia. No existe ningún selector de longitud de onda que se aproxime al caso ideal; en su lugar, lo que se obtiene es una banda, como la de la Figura 7-11. En este caso, se representa el tanto por

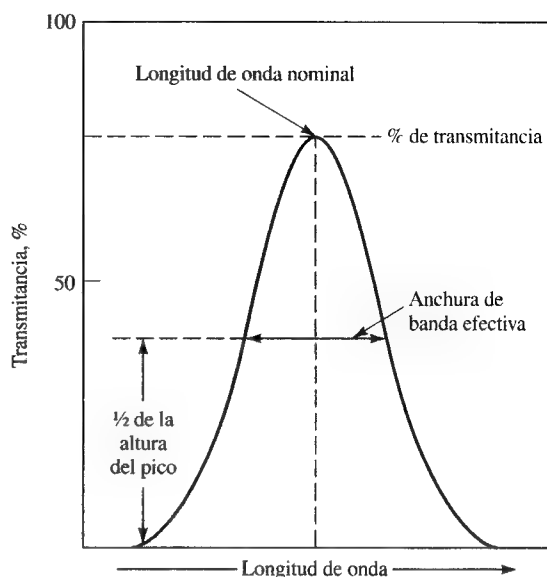


Figura 7-11. Señal de salida de un selector de longitud de onda típico.

ciento de radiación incidente de una determinada longitud de onda que es transmitida por el selector en función de la longitud de onda. La *anchura de banda efectiva*, definida en la Figura 7-11, es una medida inversa de la calidad del dispositivo, siendo la resolución mejor cuanto más estrecha es la anchura de banda. Existen dos clases de selectores de longitud de onda, los filtros y los monocromadores.

7C-1. Filtros

Se emplean dos tipos de filtros para la selección de la longitud de onda: los *filtros de interferencia* (llamados a veces *filtros de Fabry-Perot*) y *filtros de absorción*. Los filtros de absorción se limitan a la región visible del espectro; mientras que los filtros de interferencia operan en la región ultravioleta, visible y buena parte del infrarrojo.

Filtros de interferencia

Como su nombre indica, los filtros de interferencia se fundamentan en las interferencias ópticas para producir bandas estrechas de radiación. Un filtro de interferencia consta de un dieléctrico¹² transpa-

¹¹ Obsérvese que el término *banda*, en este contexto, tiene un significado algo diferente del que se utilizó para describir los tipos de espectros en el Capítulo 6.

¹² Un material dieléctrico es un aislante que no contiene esencialmente partículas cargadas que transporten la corriente. Los dieléctricos son generalmente transparentes a la mayoría de las regiones espectrales.

rente (con frecuencia fluoruro de calcio o de magnesio) que ocupa el espacio entre dos películas metálicas semitransparentes. Esta disposición se coloca entre dos placas de vidrio u otro material transparente (véase Fig. 7-12a). El espesor de la capa dieléctrica se controla cuidadosamente y determina la longitud de onda de la radiación transmitida. Cuando un haz perpendicular de radiación colimada incide en esta disposición, una fracción atraviesa la primera capa metálica, mientras que el resto se refleja. La parte que ha pasado sufre una partición similar cuando incide en la segunda película metálica. Si la parte reflejada de esta segunda interacción es de la longitud de onda adecuada, se refleja parcialmente desde la cara interna de la primera capa en fase con la luz incidente de la misma longitud de onda. El resultado es que se refuerza esta determinada longitud de onda, mientras que la mayoría de las otras longitudes de onda, que no están en fase, sufren una interferencia destructiva.

La relación entre el espesor de la capa dieléctrica t y la longitud de onda transmitida λ puede calcularse con la ayuda de la Figura 7-12b. Para una mayor claridad, el haz incidente se muestra despla-

zándose con un ángulo θ respecto a la normal. En el punto 1, la radiación en parte se refleja y en parte se transmite hasta el punto 1', donde tiene lugar de nuevo una reflexión y una transmisión parciales. El mismo proceso sucede en 2, 2' y así sucesivamente. Para reforzar lo que sucede en el punto 2, la distancia recorrida por el haz reflejado en el punto 1' debe ser un múltiplo de su longitud de onda en el medio λ' . Como la distancia entre superficies puede expresarse como $t/\cos \theta$, la condición de refuerzo es que

$$n\lambda' = 2t/\cos \theta$$

donde n es un número entero pequeño.

En general, θ se aproxima a cero y $\cos \theta$ a la unidad, por lo que la ecuación deducida se simplifica a

$$n\lambda' \approx 2t \quad (7-4)$$

donde λ' es la longitud de onda de la radiación en el dieléctrico y t es el espesor del dieléctrico. La longitud de onda correspondiente en el aire viene dada por

$$\lambda = \lambda' \eta$$

donde η es el índice de refracción del medio dieléctrico. Por tanto, la longitud de onda de la radiación transmitida por el filtro es

$$\lambda = \frac{2t\eta}{n} \quad (7-5)$$

El número entero n es el orden de interferencia. Las capas de vidrio del filtro a menudo se seleccionan para que absorban todas las bandas reforzadas excepto una; por tanto, la transmisión se limita a un único orden.

La Figura 7-13 ilustra las características de funcionamiento de algunos filtros de interferencia típicos. Tal como se muestra, los filtros se suelen caracterizar por la longitud de onda de sus picos de transmitancia, por el tanto por ciento de radiación incidente transmitida en el pico (su tanto por ciento de transmitancia, Ecuación 6-31) y por sus anchuras de banda efectivas.

Se dispone de filtros de interferencia para la totalidad de la región ultravioleta y visible y para la infrarroja hasta aproximadamente $14 \mu\text{m}$. Las anchuras de banda efectivas características están alrededor de un 1,5 por 100 de la transmitancia de la

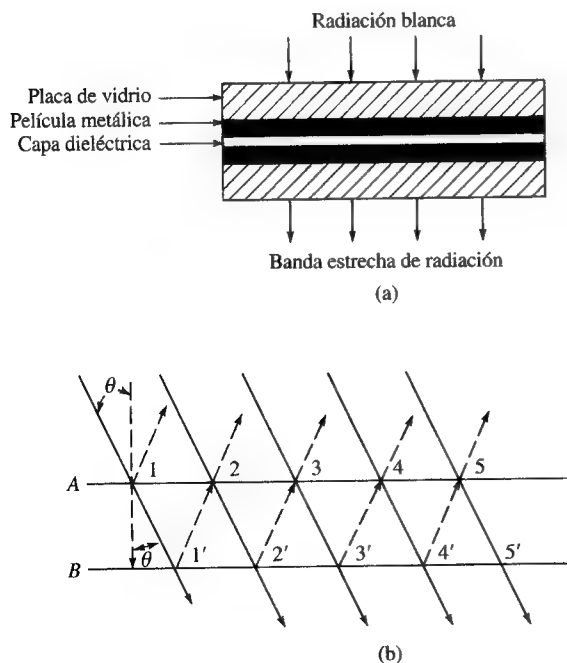


Figura 7-12. (a) Esquema de la sección transversal de un filtro de interferencia. Obsérvese que el dibujo no está hecho a escala y que las tres bandas centrales en realidad son mucho más estrechas. (b) Esquema que muestra las condiciones para una interferencia constructiva.

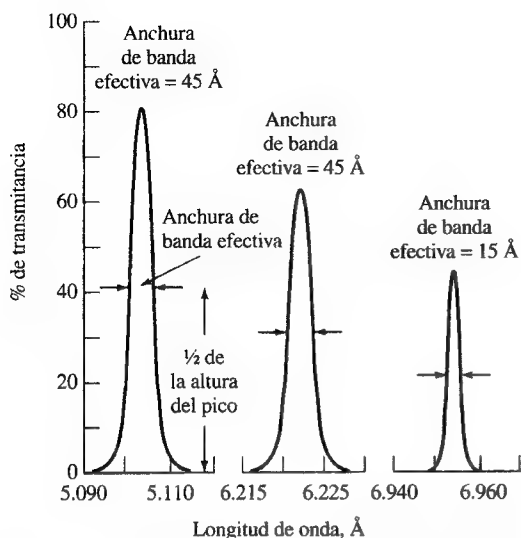


Figura 7-13. Características de transmisión de filtros de interferencia típicos.

longitud de onda en el pico, aunque este número se reduce a un 0,15 por 100 en algunos filtros de banda estrecha, cuyas transmitancias máximas son de un 10 por 100.

Cuñas de interferencia

Una cuña de interferencia consta de un par de placas parcialmente transparentes, especulares, separadas por una capa de un material dieléctrico en forma de cuña. La longitud de las placas es de 50 a 200 mm aproximadamente. La radiación transmitida varía en longitud de onda continuamente de un extremo al otro a medida que lo hace el espesor de la cuña. Si se escoge la posición lineal adecuada a lo largo de la cuña, se puede aislar una anchura de banda de unos 20 nm.

Se dispone de cuñas de interferencia para la región del visible (400 a 700 nm), para la región del infrarrojo cercano (1.000 a 2.000 nm) y para varias zonas de la región del infrarrojo (2,5 a 14,5 μm). En los monocromadores se pueden utilizar en lugar de los prismas o de las redes.

Filtros de absorción

Los filtros de absorción, que en general son más baratos que los filtros de interferencia, se han utilizado mucho para la selección de bandas en la región visible. Estos filtros funcionan absorbiendo ciertas zonas del espectro. El tipo más habitual es un vidrio coloreado o una suspensión de un colo-

rante en gelatina que se coloca entre dos placas de vidrio. El primero tiene la ventaja de una mayor estabilidad térmica.

Los filtros de absorción tienen anchuras de banda efectivas que oscilan entre 30 y 250 nm (véanse Figs. 7-14 y 7-15). Los filtros que proporcionan las anchuras de banda más estrechas también absorben una fracción significativa de la radiación deseada y pueden tener una transmitancia del 10 por 100 o menos en sus picos de banda. En el comercio existen filtros de vidrio con máximos de transmitancia en toda la región del visible.

Los *filtros de corte* tienen transmitancias de casi el 100 por 100 en una zona del espectro visible, pero luego disminuyen rápidamente hasta un valor de transmitancia igual a cero en el resto. Una banda espectral estrecha puede aislarse acoplando un filtro de corte con un segundo filtro (véase Fig. 7-15).

De la Figura 7-14 resulta evidente que las características de funcionamiento de los filtros de absorción son significativamente inferiores a las de los filtros de interferencia. No sólo son mayores las anchuras de banda de los filtros de absorción, sino que, para anchuras de banda estrechas, la fracción de luz transmitida también es menor. Sin embargo, los filtros de absorción son perfectamente adecuados para muchas aplicaciones.

7C-2. Monocromadores

En muchos métodos espectroscópicos, es necesario o deseable poder variar, de forma continua y en un amplio intervalo, la longitud de onda de la radia-

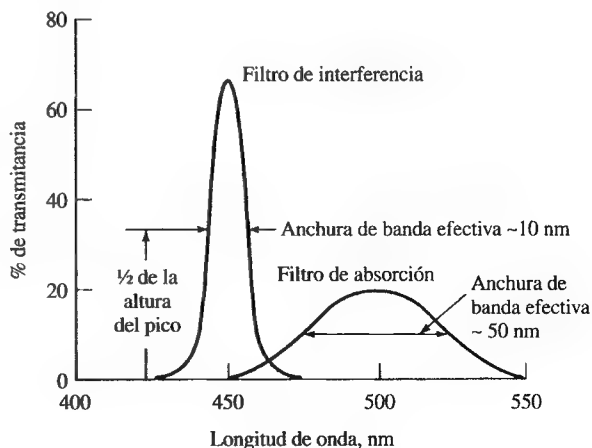


Figura 7-14. Anchuras de banda efectiva para dos tipos de filtros.

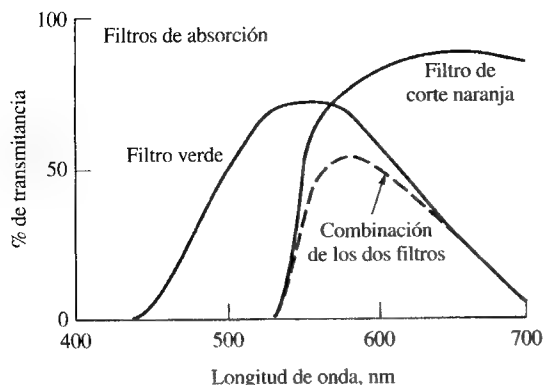


Figura 7-15. Comparación de varios tipos de filtros para la radiación visible.

ción. Este proceso se denomina *barrido* de un espectro. Los monocromadores se diseñan para realizar barridos espectrales. Los monocromadores para las radiaciones ultravioleta, visible e infrarroja son similares en cuanto a construcción mecánica, ya que todos ellos utilizan rendijas, lentes, espejos, ventanas y redes o prismas. Para ser fiables, los

materiales con los que se fabrican estos componentes dependen de la región de longitudes de onda a la que se destine su uso (véase Fig. 7-2).

Componentes de los monocromadores

La Figura 7-16 muestra los elementos ópticos que hay en todos los monocromadores, que son: (1) una rendija de entrada que proporciona una imagen óptica rectangular, (2) una lente colimadora o un espejo que produce un haz paralelo de radiación, (3) un prisma o una red que dispersa la radiación en sus longitudes de onda individuales, (4) un elemento focalizador que forma de nuevo la imagen de la rendija de entrada y la enfoca en una superficie plana denominada *plano focal* y (5) una rendija de salida en el plano focal que aísla la banda espectral deseada. Además, la mayoría de los monocromadores tienen ventanas de entrada y de salida, que se diseñan para proteger a los componentes del polvo y de los vapores corrosivos del laboratorio.

Como se muestra en la Figura 7-16, en los monocromadores hay dos clases de elementos disper-

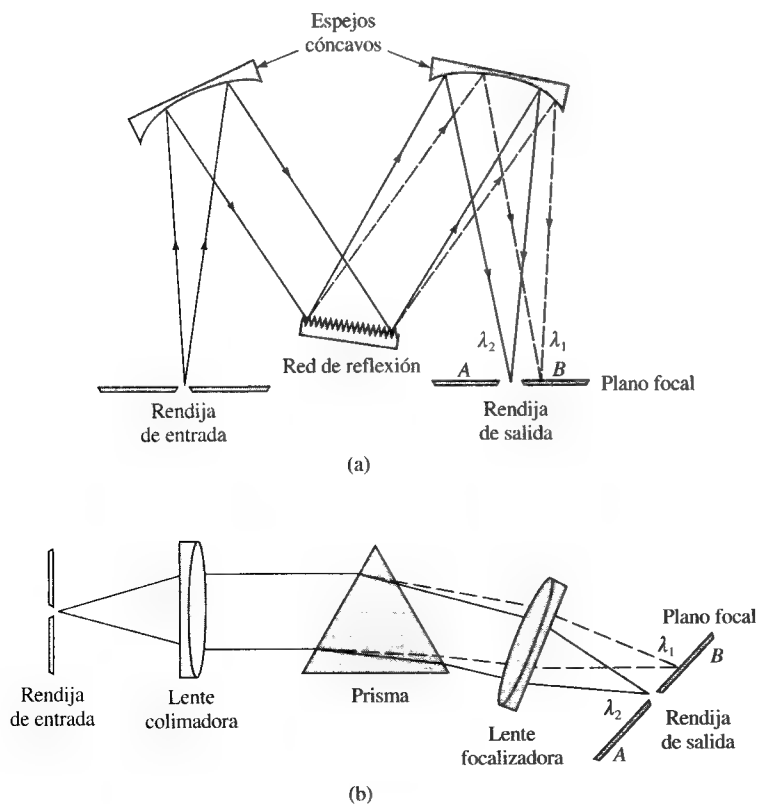


Figura 7-16. Dos tipos de monocromadores: (a) monocromador de red de Czerney-Turner y (b) monocromador de prisma de Bunsen. (En ambos casos, $\lambda_1 > \lambda_2$.)

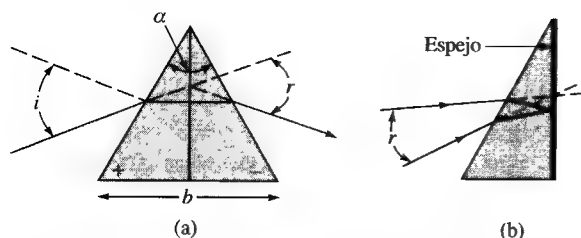


Figura 7-18. Dispersión por un prisma: (a) de cuarzo tipo Cornu y (b) tipo Littrow.

Monocromadores de red

Las radiaciones ultravioleta, visible e infrarroja pueden dispersarse dirigiendo un haz policromático a través de una *red de transmisión* o hacia la superficie de una *red de reflexión*; esta última es con mucho la más usual. Las *redes réplica*, que se usan en la mayoría de los monocromadores, se fabrican a partir de una *red patrón*¹³. Esta última consiste en una superficie dura, pulida y ópticamente plana sobre la que se han grabado, con una herramienta de diamante afilada adecuadamente, un gran número de surcos paralelos y muy próximos entre sí. En la Figura 7-19 se muestra una vista de la sección transversal ampliada de algunos de estos surcos característicos. Una red para la región ultravioleta y visible tiene normalmente de 300 a

2.000 surcos/mm, siendo lo más habitual de 1.200 a 1.400. Para la región infrarroja, tienen de 10 a 200 surcos/mm; para los espectrofotómetros diseñados para el intervalo más usado del infrarrojo, de 5 a 15 μm , una red de unos 100 surcos/mm es la adecuada. La fabricación de una buena red patrón es tediosa, larga y cara, ya que los surcos deben ser de idéntico tamaño, exactamente paralelos, e igualmente espaciados a lo largo de la red (3 a 10 cm).

Las redes réplica se hacen a partir de una red patrón mediante un proceso de moldeado con una resina líquida que preserva, de forma casi perfecta, la exactitud óptica de la red patrón original sobre una superficie de resina transparente. Esta superficie generalmente se hace reflectante mediante un recubrimiento de aluminio, o, algunas veces, de oro o platino.

La red de escalerilla. La Figura 7-19 es una representación esquemática de una red *tipo escalerilla*, a la que se la han hecho estrías o *surcos* de forma que tiene caras relativamente anchas, en las que se produce la reflexión, y caras estrechas no utilizadas. Esta geometría proporciona una difracción muy eficaz de la radiación. Cada una de las caras anchas se puede considerar como una fuente puntual de radiación; así pues, se puede producir una interferencia entre los haces reflejados 1, 2 y 3. Para que la interferencia sea constructiva, es necesario que los caminos ópticos difieran en un múltiplo entero n de la longitud de onda λ del haz incidente.

En la Figura 7-19, se muestran los haces paralelos 1 y 2 de una radiación monocromática que incide en la red con un ángulo i respecto a la *normal de la red*. La máxima interferencia constructiva

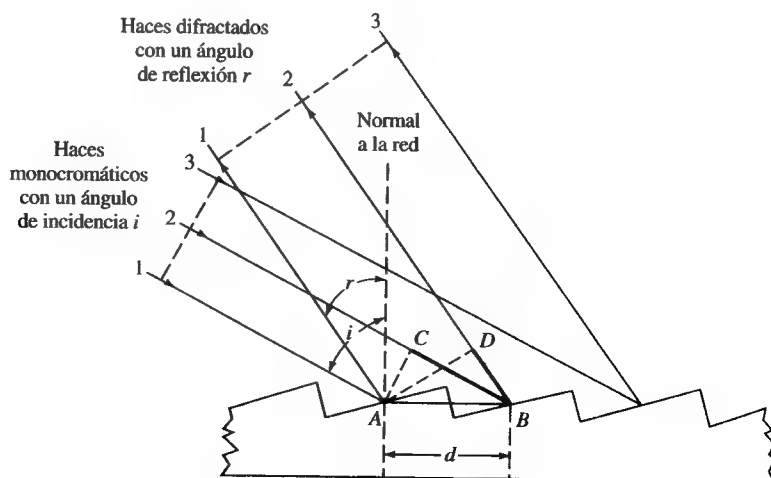


Figura 7-19. Mecanismos de difracción de una red tipo escalerilla.

¹³ Para un estudio interesante e informativo sobre la construcción, ensayos y características de funcionamiento de las redes, véase *Diffraction Grating Handbook*, Rochester, NY: Bausch and Lomb, Inc. (ahora Milton Roy Company), 1970. Para una perspectiva histórica sobre la importancia de las redes en el desarrollo de la ciencia, véase A. G. Ingalls, *Sci. Amer.*, 1952, 186(6), 45.

santes: redes de reflexión y prismas. Para la explicación se muestra un haz constituido por sólo dos longitudes de ondas, λ_1 y λ_2 ($\lambda_1 > \lambda_2$). Esta radiación entra en el monocromador por una abertura estrecha rectangular o *rendija*, se colima y, seguidamente, incide sobre la superficie del elemento dispersante con un ángulo dado. En un monocromador de red, la dispersión angular de las longitudes de onda tiene su origen en la difracción que se produce en la superficie reflectante; en un prisma, la refracción en las dos caras da lugar a una dispersión angular de la radiación, tal como se muestra. En ambos casos, la radiación dispersada se enfoca en el plano focal *AB*, donde aparece como dos imágenes rectangulares de la rendija de entrada (una para λ_1 y otra para λ_2). Girando el elemento dispersante, se puede enfocar una u otra banda en la rendija de salida.

Antiguamente, la mayoría de los monocromadores eran instrumentos de prisma. Sin embargo, actualmente, casi todos los monocromadores comerciales llevan redes de reflexión, porque son más baratas de fabricar, proporcionan mejor separación de las longitudes de onda para un mismo tamaño del elemento dispersante y dispersan linealmente la radiación a lo largo del plano focal. Como se muestra en la Figura 7-17a, la dispersión lineal significa que la posición de una banda a lo largo del plano focal para una red varía linealmente con su longitud de onda. Por el contrario, en los instrumentos de prisma, las longitudes de onda más cortas se dispersan en mayor grado que las largas, lo que complica el diseño del instrumento. La dispersión no lineal de los dos tipos de monocromado-

res de prisma se ilustra en la Figura 7-17b. Debido a su utilización más generalizada, se centrará el estudio mayoritariamente en los monocromadores de red.

Monocromadores de prisma

Los prismas se pueden utilizar para dispersar radiación ultravioleta, visible e infrarroja. Sin embargo, el material usado para su fabricación difiere según la región de longitudes de onda (véase Fig. 7-2b).

La Figura 7-18 muestra los dos tipos de diseño más habituales de un prisma. El primero es un prisma de 60 grados, que se suele fabricar a partir de un único bloque de material. Sin embargo, cuando el material de construcción es cuarzo cristalino (pero no fundido), el prisma se suele formar cementando entre sí dos prismas de 30 grados, como se muestra en la Figura 7-18a; uno se fabrica de cuarzo dextrógiro y el otro de cuarzo levógiro. De esta manera, el cuarzo ópticamente activo no produce una polarización neta de la radiación emitida; este tipo de prisma se denomina *prisma Cornu*. La Figura 7-16b muestra un *monocromador de Bunsen*, que utiliza un prisma de 60 grados, igualmente construido con frecuencia de cuarzo.

El *prisma de Littrow*, mostrado en la Figura 7-18b, es un prisma de 30 grados con la cara posterior especular, que permite diseños más compactos de monocromadores. La refracción en este tipo de prisma se produce dos veces en la misma interfase, de forma que las características de funcionamiento son similares a las de un prisma de 60 grados con un montaje de Bunsen.

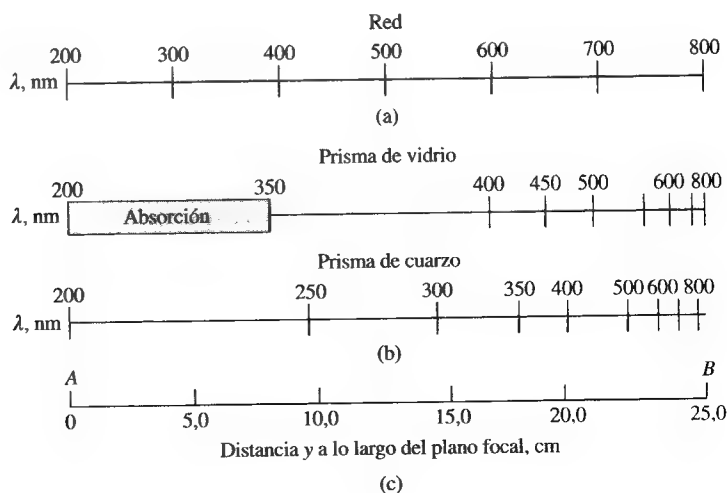


Figura 7-17. Dispersión para los tres tipos de monocromadores. Los puntos A y B en la escala (c) corresponden a los puntos mostrados en la Figura 7-16.

va se produce para un ángulo reflejado r . Es evidente que el haz 2 recorre una distancia mayor que el haz 1 y que esta diferencia de caminos es igual a $(\overline{CB} + \overline{BD})$ (aparece como un trazo más ancho en la figura). Para que se produzca una interferencia constructiva, esta diferencia debe ser igual a $n\lambda$. Esto es,

$$n\lambda = (\overline{CB} + \overline{BD})$$

donde n es un número entero pequeño y se denomina *orden* de difracción. Sin embargo, obsérvese que el ángulo CAB es igual al ángulo i y que el ángulo DAB es idéntico al ángulo r . Por tanto, a partir de una relación trigonométrica sencilla, se puede escribir

$$\overline{CB} = d \sin i$$

donde d representa el espaciado entre las superficies reflectantes. También se puede ver que

$$\overline{BD} = d \sin r$$

Sustituyendo las dos últimas expresiones en la primera se obtiene la condición para conseguir una interferencia constructiva. Así pues,

$$n\lambda = d(\sin i + \sin r) \quad (7-6)$$

La Ecuación 7-6 sugiere que existen distintos valores de λ para un determinado ángulo de difracción r . Por tanto, si se encuentra una línea de primer orden ($n = 1$) de 900 nm a r , las líneas de segundo orden (450 nm) y de tercer orden (300 nm) también aparecen a este ángulo. En general, la línea de primer orden es la más intensa; de hecho, se pueden diseñar redes que concentren en este orden hasta un 90 por 100 de la intensidad incidente. Las líneas de órdenes superiores pueden eliminarse, en general, mediante filtros. Por ejemplo, el vidrio, que absorbe la radiación inferior a 350 nm, elimina los espectros de orden superior asociados a la radiación de primer orden en la mayor parte de la región visible. El ejemplo siguiente ilustra estas consideraciones.

EJEMPLO 7-1

Una red de escalerilla de 1.450 surcos/mm se irradió con un haz policromático con un ángulo de in-

cidencia de 48 grados respecto a la normal de la red. Calcular las longitudes de onda de la radiación que aparecerán con ángulos de reflexión de: +20, +10 y 0 grados (ángulo r , Fig. 7-19).

Para obtener d en la Ecuación 7-6, se escribe

$$d = \frac{1 \text{ mm}}{1.450 \text{ surcos}} \times 10^6 \frac{\text{nm}}{\text{mm}} = 698,7 \frac{\text{nm}}{\text{surco}}$$

En la Figura 7-19 cuando r es igual a +20 grados,

$$\lambda = \frac{698,7}{n} \text{ nm} (\sin 48 + \sin 20) = \frac{748,4}{n} \text{ nm}$$

y la longitud de onda para la reflexión de primero, segundo y tercer orden son 748, 374 y 249 nm, respectivamente.

Cálculos similares dan los siguientes resultados:

r , grados	Longitud de onda (nm) para		
	$n = 1$	$n = 2$	$n = 3$
20	748	374	249
10	632	316	211
0	513	256	171

Redes cóncavas. Las redes se pueden formar sobre una superficie cóncava al igual que sobre una superficie plana. Una red cóncava permite el diseño de un monocromador sin espejos o lentes colimadores y focalizadores auxiliares, porque la superficie cóncava dispersa y focaliza la radiación en la rendija de salida. Esta disposición es más barata; además, la disminución del número de superficies ópticas aumenta el rendimiento energético del monocromador que dispone de una red cóncava.

Redes holográficas¹⁴. Uno de los productos que provienen del desarrollo de la tecnología láser es una técnica óptica (más que mecánica) para fabricar redes sobre superficies de vidrio planas o cóncavas. Las *redes holográficas* construidas de esta

¹⁴ Véase J. Flamand, A. Grillo y G. Hayat, *Amer. Lab.*, **1975**, 7 (5), 47; y J. M. Lerner y col., *Proc. Photo-Opt. Instrum. Eng.*, **1980**, 240, 72, 82.

manera se están incorporando cada vez más a los instrumentos ópticos modernos, incluso en los más económicos. Las redes holográficas producen espectros con menos radiación parásita y fantasmas (dobles imágenes), debido a su mayor perfección en la forma y dimensiones de las líneas.

Para construir las redes holográficas, se hace incidir con un ángulo apropiado los rayos de un par de láseres idénticos sobre una superficie de vidrio recubierto con un material fotosensible. Las franjas de la interferencia de los dos haces resultantes sensibilizan a la sustancia fotosensible de manera que ésta se pueda disolver, dejando una estructura de surcos que puede recubrirse con aluminio u otra sustancia reflectante para obtener una red de reflexión. El espaciado de los surcos se puede variar modificando el ángulo que forman entre sí los dos rayos láser. De esta manera, se pueden fabricar redes grandes (~ 50 cm), casi perfectas, de 6.000 líneas/mm y relativamente baratas. Al igual que sucede con las redes grabadas, a partir de redes holográficas patrón se pueden moldear redes réplica. Se ha publicado que no existe ningún ensayo óptico que permita distinguir una red holográfica patrón de su correspondiente red réplica¹⁵.

Características de funcionamiento de los monocromadores de red

La calidad de un monocromador depende de la pureza de su radiación de salida, de su capacidad para separar longitudes de onda adyacentes, de su poder de captación de la luz y de su anchura de banda espectral. Esta última propiedad se trata en el Apartado 7C-3.

Pureza espectral. El haz de salida de un monocromador suele estar contaminado con pequeñas cantidades de radiación dispersada o parásita cuyas longitudes de onda son muy diferentes de las del montaje instrumental. Esta radiación no deseada puede proceder de varias fuentes. Entre ellas están las reflexiones del haz procedentes de diversos componentes ópticos y del alojamiento del monocromador; las primeras se originan por imperfecciones mecánicas, particularmente en las redes, producidas durante la fabricación. La dispersión por partículas de polvo de la atmósfera o en las superficies de los componentes ópticos hacen que la radiación parásita alcance también la rendija de

salida. En general, los efectos de la radiación espúrea se minimizan introduciendo pantallas en lugares apropiados del monocromador y recubriendo las superficies interiores con pintura negra mate. Además, el monocromador se sella con ventanas por encima de las rendijas para prevenir la entrada de polvo y vapores. Sin embargo, a pesar de estas precauciones, algo de radiación espúrea se emite todavía; se verá que su presencia puede dar lugar a graves efectos en las medidas de absorción en determinadas condiciones¹⁶.

Dispersión en los monocromadores de red. La capacidad de un monocromador para separar diferentes longitudes de onda depende de su *dispersión*. La *dispersión angular* viene dada por $dr/d\lambda$, donde dr es la variación del ángulo de reflexión o de refracción cuando varía la longitud de onda $d\lambda$. El ángulo r se define en las Figuras 7-18 y 7-19.

La dispersión angular de una red puede obtenerse diferenciando la Ecuación 7-6 mientras se mantiene i constante. Así pues, para cualquier ángulo de incidencia dado,

$$\frac{dr}{d\lambda} = \frac{n}{d \cos r} \quad (7-7)$$

La *dispersión lineal* D se refiere a la variación de la longitud de onda en función de y , distancia AB de los planos focales, como se muestra en la Figura 7-16. Si F es la distancia focal del monocromador, la dispersión lineal puede relacionarse con la dispersión angular por medio de la relación

$$D = \frac{dr}{d\lambda} = \frac{Fdr}{d\lambda} \quad (7-8)$$

Una medida más útil de la dispersión es la *dispersión recíproca lineal* D^{-1} en la que

$$D^{-1} = \frac{d\lambda}{dy} = \frac{1}{F} \frac{d\lambda}{dr} \quad (7-9)$$

Las dimensiones de D^{-1} son a menudo nm/mm o Å/mm.

¹⁵ I. R. Alteltmose, *J. Chem. Educ.*, **1986**, 63, A221.

¹⁶ Para una explicación de la detección, medida y efectos de la radiación parásita, véase W. Kaye, *Anal. Chem.*, **1981**, 53, 2201; y M. R. Sharpe, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, 339A.

Sustituyendo la Ecuación 7-7 en la Ecuación 7-9 se obtiene la dispersión recíproca lineal de un monocromador de red:

$$D^{-1} = \frac{d\lambda}{dy} = \frac{d \cos r}{nF} \quad (7-10)$$

Obsérvese que la dispersión angular aumenta a medida que la distancia d entre las líneas disminuye o a medida que el número de líneas por milímetro aumenta. Para ángulos de difracción pequeños (<20 grados) $\cos r \approx 1$ y la Ecuación 7-10 es aproximadamente

$$D^{-1} = \frac{d}{nF} \quad (7-11)$$

Hay que destacar que, a efectos prácticos, si el ángulo r es pequeño, la dispersión lineal de un monocromador de red es constante, una propiedad que simplifica, en gran medida, el diseño del monocromador.

Poder de resolución de los monocromadores.

El poder de resolución R de un monocromador indica el límite de su capacidad para separar imágenes adyacentes que tienen longitudes de onda ligeramente diferentes. En este caso, por definición

$$R = \lambda/\Delta\lambda \quad (7-12)$$

donde λ es la longitud de onda promedio de las dos imágenes y $\Delta\lambda$ su diferencia. El poder de resolución de los monocromadores de los equipos ultravioleta/visible de mesa típicos está comprendido entre 10^3 y 10^4 .

Puede demostrarse¹⁷ que el poder de resolución de una red viene dado por la expresión

$$R = \frac{\lambda}{\Delta\lambda} = nN \quad (7-13)$$

donde n es el orden de difracción y N el número de surcos de la red iluminados por la radiación procedente de la rendija de entrada. Así, una mejor resolución es una característica de las redes más largas, de menor espaciado entre surcos y de órdenes de difracción más elevados. Esta ecuación se aplica tanto a las redes de escalera como a las redes de escalera.

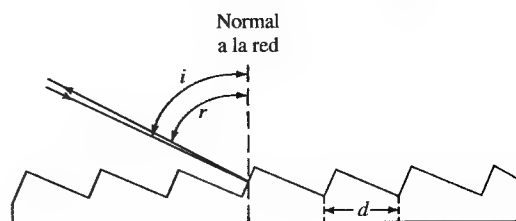


Figura 7-20. Red de escalera: i = ángulo de incidencia; r = ángulo de reflexión; d = espacio entre surcos. En la práctica, $i \approx r = \beta = 63^\circ 26'$.

Poder de captación de luz de los monocromadores.

Para aumentar la relación señal/ruido de un espectrómetro es necesario que la energía radiante que llegue al detector sea lo mayor posible. El $f/número$ entero o velocidad proporciona una medida de la capacidad de un monocromador para recoger la radiación que sale de la rendija de entrada. El $f/número$ entero se define mediante la ecuación

$$f = F/d \quad (7-14)$$

donde F es la distancia focal del espejo colimador (o lente) y d su diámetro. El poder de captación de luz de un dispositivo óptico aumenta con el inverso del cuadrado de $f/número$ entero. Por tanto, una lente $f/2$ recoge cuatro veces más luz que una lente $f/4$. Para muchos monocromadores, el $f/número$ entero oscila entre 1 y 10.

Monocromadores de escalera. Los monocromadores de escalera contienen dos elementos dispersantes dispuestos en serie. El primero de estos elementos es un tipo especial de red denominada *red de escalera*. El segundo, que le sigue, es generalmente un prisma de baja dispersión o, a veces, una red. La red de escalera, que fue descrita por primera vez en 1949 por G. R. Harrison, proporciona una mayor dispersión y mayor resolución que una red de escalera del mismo tamaño¹⁸. La Figura 7-20 muestra una sección transversal de una red de escalera típica. Difiere de la red de escalera, mostrada en la Figura 7-19, en varios aspectos. En primer lugar, para conseguir un elevado ángulo de incidencia, el ángulo de surco en una red de esca-

¹⁷ R. A. Sawyer, *Experimental Spectroscopy*, 2.ª ed., página 130. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1951.

¹⁸ Para un estudio más detallado de la red de escalera, véase P. N. Keliher y C. C. Wohlers, *Anal. Chem.*, **1976**, *48*, 333A; D. L. Anderson, A. R. Forster y M. L. Parsons, *Anal. Chem.*, **1981**, *53*, 770; A. T. Zander y P. N. Keliher, *Appl. Spectrosc.*, **1979**, *33*, 499.

lera es significativamente mayor que en un dispositivo convencional, y se utiliza la cara estrecha del surco más que la ancha. Además, la red es relativamente tosca y para la radiación ultravioleta/visible tiene generalmente 300 surcos por milímetro o menos. Hay que resaltar que el ángulo de reflexión r es mucho mayor en la red de escalera que en la red de escalerilla, y que se aproxima al ángulo de incidencia i . Esto es,

$$r \approx i = \beta$$

En estas circunstancias, la Ecuación 7-6 para una red se convierte en

$$n\lambda = 2d \sin \beta \quad (7-15)$$

Con una red de escalerilla normal se puede obtener una gran dispersión o una dispersión recíproca baja con una anchura entre surcos d pequeña y con una distancia focal F grande. Una distancia focal grande reduce la captación de luz y hace al monocromador grande y difícil de manejar. En cambio, en la red de escalera se consigue una elevada dispersión aumentando tanto el ángulo β como el orden de difracción n . Por tanto, la dispersión recíproca para una red de escalera puede obtenerse modificando la Ecuación 7-10

$$D^{-1} = \frac{2d \cos \beta}{nF} \quad (7-16)$$

Las ventajas de la red de escalera se ilustran con los datos de la Tabla 7-1, los cuales muestran las características de funcionamiento de dos monocromadores típicos, uno con una red de escalerilla convencional y el otro con una de escalera. Obsérvese que, para la misma distancia focal, la dispersión lineal y la resolución son un orden de magnitud mayor con la red de escalera; el poder de captación de luz de la red de escalera también es algo superior.

Uno de los problemas que se presentan con el uso de una red de escalera es que, a órdenes de difracción altos, la dispersión lineal es tan grande que para cubrir un intervalo espectral razonablemente amplio es necesario utilizar muchos órdenes sucesivos. Por ejemplo, un instrumento diseñado para cubrir un intervalo de 200 a 800 nm emplea unos órdenes de difracción de 28 a 118 (90 órdenes sucesivos). Dado que estos órdenes se solapan inevitablemente, es esencial el empleo de un sistema

TABLA 7-1. Comparación de las características de funcionamiento de un monocromador convencional y un monocromador de escalera*

	Convencional	De escalera
Distancia focal	0,5 m	0,5 m
Número de surcos	1.200/mm	79/mm
Ángulo de difracción, β	10°22'	63°26'
Orden n (a 300 nm)	1	75
Resolución (a 300 nm), $\lambda/\Delta\lambda$	62.400	763.000
Dispersión recíproca lineal, D^{-1}	16 Å/mm	1,5 Å/mm
Poder de captación de luz, f	$f/9,8$	$f/8,8$

* Con autorización de P. E. Keliher y C. C. Wohlers, *Anal. Chem.*, 1976, 48, 334A. Copyright 1976 por la American Chemical Society.

de dispersión transversal con una red de escalera, como el que se muestra en la Figura 7-21a. En este caso, la radiación dispersada por la red se hace pasar a través de un prisma (en algunos sistemas se utiliza una segunda red), cuyo eje se coloca a 90 grados con respecto a la red. El efecto de esta disposición es que se produce un espectro bidimensional como el que se muestra esquemáticamente en la Figura 7-21b. En esta figura, se indica mediante líneas verticales cortas la posición de 8 de los 70 órdenes. Para un orden cualquiera dado, la dispersión de la longitud de onda es aproximadamente lineal, pero, como se puede apreciar, la dispersión disminuye a órdenes más bajos o a longitudes de onda más largas. Un espectro bidimensional real de un monocromador de escalera consiste en una serie compleja de líneas verticales cortas a lo largo de 50 a 100 ejes horizontales, donde cada eje corresponde a un orden de difracción. Para cambiar la longitud de onda con un monocromador de escalera, es necesario cambiar el ángulo de la red y del prisma.

En los últimos años, varios fabricantes de instrumentación han empezado a comercializar espectrómetros de escalera para la determinación simultánea de una multitud de elementos por espectroscopia de emisión atómica. Los diseños ópticos de dos de estos instrumentos se muestran en las Figuras 10-7 y 10-9.

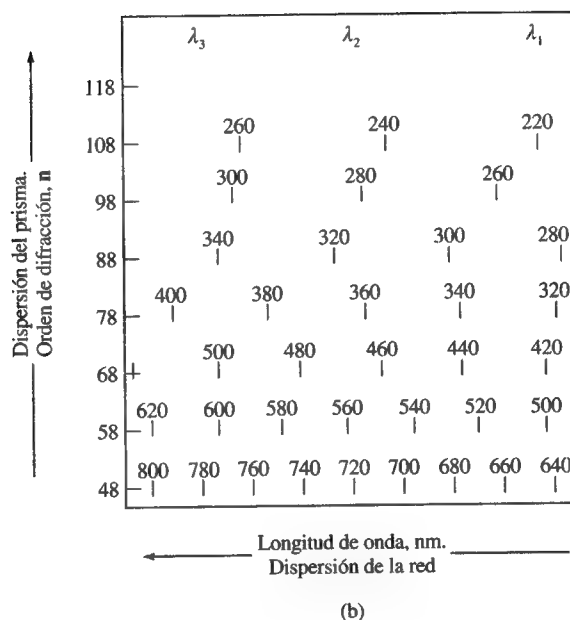
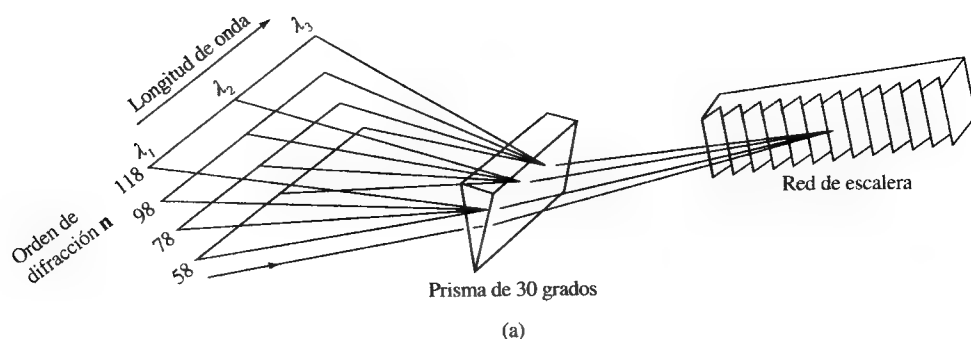


Figura 7-21. Monocromador de escalera: (a) disposición de los elementos dispersantes, y (b) esquema de la radiación dispersada resultante vista desde el detector.

7C-3. Rendijas del monocromador

Las rendijas de un monocromador juegan un importante papel para determinar sus características de funcionamiento y calidad. Las mordazas de la rendija se fabrican mediante un cuidadoso proceso mecánico en dos piezas de metal a las que se les hacen unos bordes afilados. Hay que asegurarse con esmero que los bordes de la rendija sean exactamente paralelos uno respecto al otro y que estén en el mismo plano. En algunos monocromadores, las aberturas de las dos rendijas son fijas; aunque suele ser más frecuente que el espaciado se pueda ajustar con un mecanismo micrométrico.

La rendija de entrada de un monocromador sirve como fuente de radiación (véase Fig. 7-16); su imagen se enfoca en el plano focal que contiene la rendija de salida. Si la fuente de radiación consta de unas pocas longitudes de onda separadas, aparecen en esta superficie una serie de imágenes rectangulares como líneas brillantes, cada una corresponde a una longitud de onda diferente. Girando el elemento dispersante, una línea determinada se puede enfocar en la rendija de salida. Si las rendijas de entrada y salida son del mismo tamaño (como suele ser el caso), la imagen de la rendija de entrada, en teoría, ocupará exactamente la abertura de la rendija de salida cuando el ajuste del mono-

cromador corresponda a la longitud de onda de la radiación. Un movimiento de la montura del monocromador en una u otra dirección produce una disminución continua de la intensidad emitida, que llega a ser cero cuando la imagen de la rendija de entrada se ha desplazado una distancia igual a su anchura.

Efecto de la anchura de la rendija sobre la resolución

La Figura 7-22 ilustra cómo incide una radiación monocromática de longitud de onda λ_2 sobre la rendija de salida. En este caso, el monocromador se ajusta para λ_2 y las dos rendijas tienen la misma anchura. La imagen de la rendija de entrada ocupa exactamente toda la rendija de salida. Un movimiento del monocromador para ajustarse a λ_1 o λ_3 hace que la imagen caiga completamente fuera de la rendija. La parte de abajo de la Figura 7-22 muestra una gráfica de la potencia radiante emitida en función del ajuste del monocromador. Hay que destacar que la *anchura de banda* se define como el espacio de ajuste del monocromador necesario

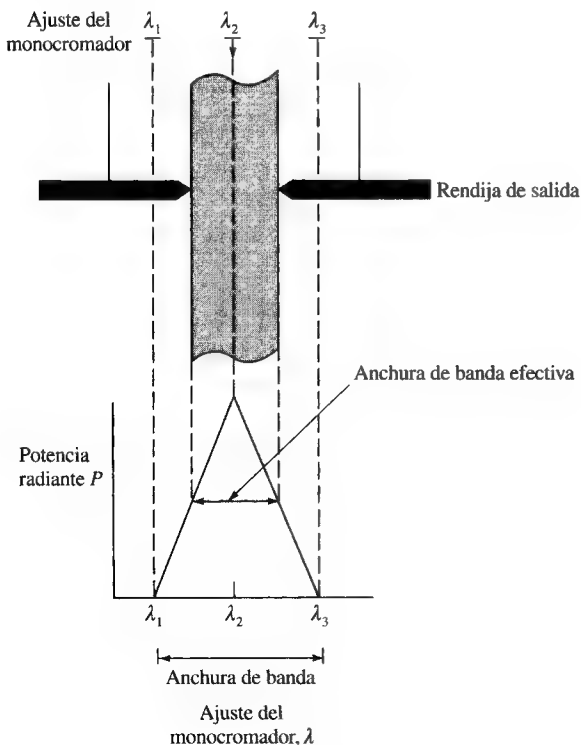


Figura 7-22. Iluminación de una rendija de salida por una radiación monocromática λ_2 para distintos ajustes del monocromador. Las rendijas de entrada y de salida son idénticas.

para mover la imagen de la rendija de entrada a través de la rendija de salida (en unidades de longitud de onda o, a veces, en unidades de cm^{-1}). Si se empleara una radiación policromática, también representaría el espacio de longitudes de onda procedente de la rendija de salida para un ajuste dado del monocromador.

La *anchura de banda efectiva*, que es la mitad de la anchura de banda cuando las dos anchuras de las rendijas son iguales, se aprecia que es el intervalo de longitudes de onda que salen del monocromador para un ajuste dado de longitud de onda. La anchura de banda efectiva se puede relacionar con la dispersión recíproca lineal, si se escribe la Ecuación 7-8 en la forma

$$D^{-1} = \frac{\Delta\lambda}{\Delta y}$$

donde $\Delta\lambda$ y Δy representan, en este caso, intervalos finitos de longitud de onda y de distancia lineal a lo largo del plano focal respectivamente. Tal como se muestra en la Figura 7-22, cuando Δy es igual a la anchura de la rendija w , $\Delta\lambda$ es la anchura de banda efectiva. Esto es,

$$\Delta\lambda_{\text{ef}} = wD^{-1} \quad (7-17)$$

La Figura 7-23 ilustra la relación entre la anchura de banda efectiva de un instrumento y su capacidad para resolver picos espectrales. En este caso, la rendija de salida de un monocromador de red se ilumina con un haz constituido por sólo tres longitudes de onda igualmente espaciadas, λ_1 , λ_2 y λ_3 ; se supone que cada línea es de la misma intensidad. En la figura superior, la anchura de banda efectiva del instrumento es exactamente igual a la diferencia de longitudes de onda entre λ_1 y λ_2 o λ_2 y λ_3 . Cuando el monocromador se ajusta a λ_2 , la radiación de esta longitud de onda ocupa justo toda la rendija. Un movimiento del monocromador en cualquier dirección disminuye la intensidad transmitida de λ_2 , pero aumenta en una cantidad equivalente la intensidad de una de las otras líneas. No se logra la resolución espectral de las tres longitudes de onda, como se indica con la línea continua de la gráfica de la derecha.

En el dibujo central de la Figura 7-23, la anchura de banda efectiva del instrumento se ha reducido estrechando las aberturas de las rendijas de entrada y salida a tres cuartas partes de sus dimensiones

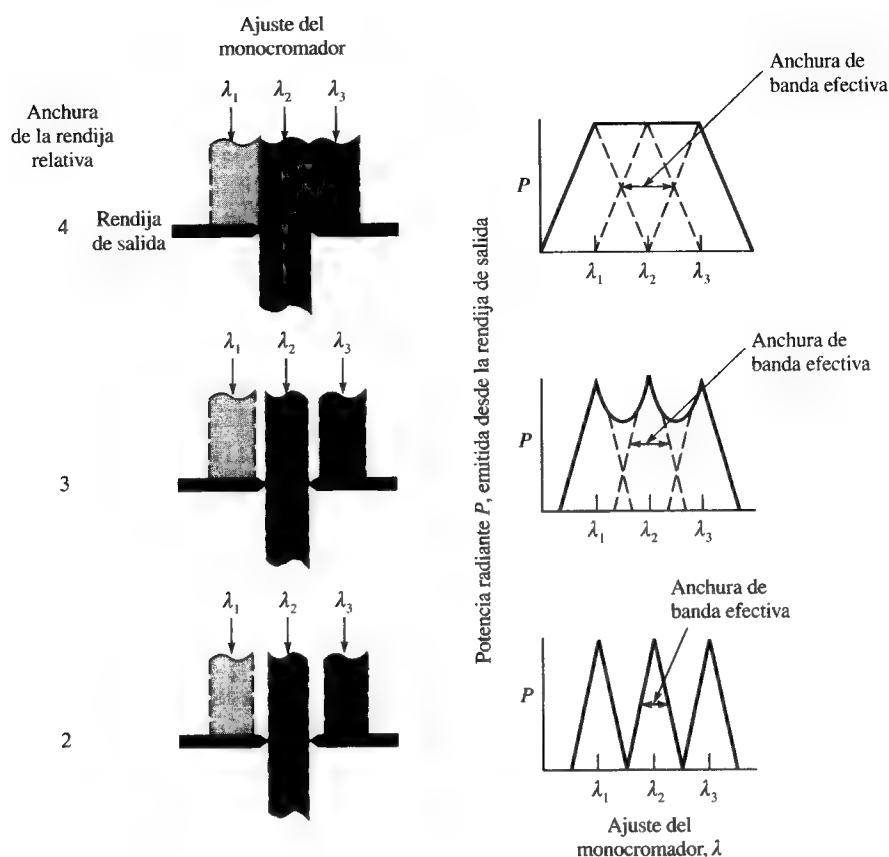


Figura 7-23. Efecto de la anchura de rendija sobre los espectros. La rendija de entrada se ilumina sólo con λ_1 , λ_2 y λ_3 . Las rendijas de entrada y de salida son idénticas. Las gráficas de la derecha muestran los cambios en la potencia radiante emitida cuando se varía el ajuste del monocromador.

originales. La línea continua de la gráfica de la derecha muestra que se obtiene una resolución parcial de las tres líneas. Una resolución completa, como la del dibujo inferior, se obtiene cuando la anchura de banda efectiva se reduce a la mitad de la diferencia de longitudes de onda de los tres haces. Por tanto, la resolución completa de dos líneas sólo es factible si la anchura de rendija se ajusta de forma que la anchura de banda efectiva del monocromador sea igual a la mitad de la diferencia de sus longitudes de onda.

La resolución completa de las dos líneas requiere que

$$\Delta\lambda_{\text{ef}} = \frac{1}{2} (589,6 - 589,0) = 0,3 \text{ nm}$$

Sustituyendo en la Ecuación 7-17 y tras reordenar se obtiene

$$w = \frac{\Delta\lambda_{\text{ef}}}{D^{-1}} = \frac{0,3 \text{ nm}}{1,2 \text{ nm/mm}} = 0,25 \text{ mm}$$

EJEMPLO 7-2

Un monocromador de red con una dispersión recíproca lineal de 1,2 nm/mm se usa para separar las líneas del sodio a 589,0 y 589,6 nm. En teoría, ¿qué anchura de rendija se necesitaría?

Es importante resaltar que las anchuras de rendija calculadas como en el Ejemplo 7-2 son teóricas. Las imperfecciones, que existen en la mayoría de los monocromadores, son tales que para lograr la resolución deseada, generalmente, se necesitan anchuras de rendija más estrechas que las teóricas.

La Figura 7-24 muestra el efecto de la anchura de banda en los espectros experimentales del vapor de benceno. Obsérvese que el espectro con más detalles se ha obtenido con el ajuste de rendija más estrecho y, por tanto, con la anchura de banda menor.

Selección de la anchura de rendija

La anchura de banda efectiva de un monocromador depende de la dispersión de la red o del prisma así como de la anchura de las rendijas de entrada y de salida. La mayoría de los monocromadores están equipados con rendijas variables, de manera que la anchura de banda efectiva se puede cambiar. Cuando se necesita resolver bandas estrechas de absorción o de emisión es deseable utilizar anchuras de rendija mínimas. Por otra parte, el estrechamiento

de las rendijas viene acompañado de una disminución notable de la potencia radiante disponible, dificultándose la consecución de medidas exactas de dicha potencia. Por tanto, se pueden utilizar anchuras de rendija mayores para los análisis cuantitativos más que para los cualitativos, en los que el detalle espectral es importante.

7D. RECIPIENTES PARA LAS MUESTRAS

Todos los estudios espectroscópicos excepto la espectroscopia de emisión, requieren recipientes para la muestra. Al igual que los elementos ópticos de los monocromadores, las *celdas* o *cubetas* que con-

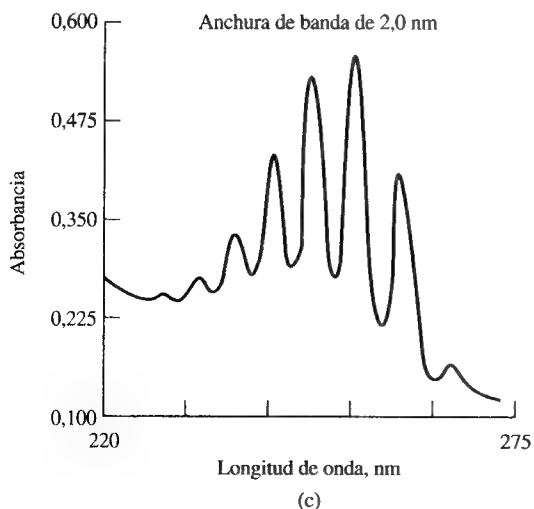
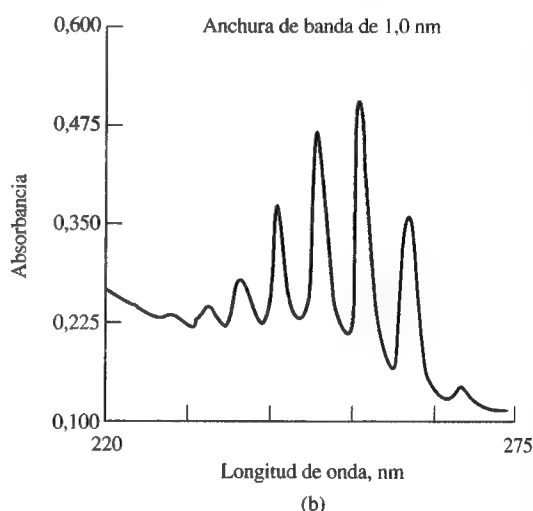
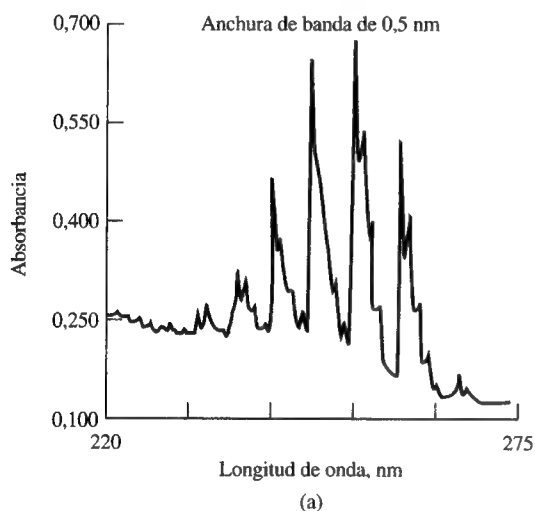


Figura 7-24. Efecto de la anchura de banda sobre los detalles del espectro del vapor de benceno: (a) 0,5 nm; (b) 1,0 nm; (c) 2,0 nm. (De V. A. Kohler, Amer. Lab., 1984 (11), 132. Copyright 1984 International Scientific Communications Inc.)

tienen las muestras se deben fabricar de un material que sea transparente a la radiación de la región espectral de interés. Tal como se muestra en la Figura 7-2, para trabajar en la región ultravioleta (por debajo de 350 nm) se necesita cuarzo o sílice fundida; ambas sustancias son transparentes en la región visible, así como en la región infrarroja hasta aproximadamente 3 μm . Los vidrios silicatados se pueden emplear en la región comprendida entre 350 y 2.000 nm. Los recipientes de plástico también se utilizan en la región visible. La sustancia más habitualmente empleada para las ventanas de las cubetas en la región infrarroja es el cloruro de sodio cristalino; otros materiales transparentes al infrarrojo citados en la Figura 7-2 pueden emplearse también para este mismo fin.

7E. DETECTORES DE RADIACIÓN

7E-1. Introducción

Los detectores de los primeros instrumentos espectroscópicos fueron el ojo humano o las películas o placas fotográficas. Estos dispositivos de detección se han sustituido, en gran parte, por detectores que convierten la energía radiante en una señal eléctrica; el estudio se limitará, en gran medida, a estos detectores más modernos.

Propiedades del detector ideal

El detector ideal debe tener una elevada sensibilidad, una elevada relación señal/ruido y una respuesta constante en un intervalo considerable de longitudes de onda. Además, debe tener un tiempo de respuesta rápido y una señal de salida igual a cero en ausencia de iluminación. Por último, la señal eléctrica producida por el transductor debería ser directamente proporcional a la potencia radiante P . Esto es,

$$S = kP \quad (7-18)$$

donde S es la respuesta eléctrica en términos de corriente o tensión, y k es la sensibilidad de calibración (Apartado 1D-2).

Muchos detectores reales muestran, en ausencia de radiación, una respuesta pequeña y constante conocida como *corriente oscura*. En dichos detectores, la respuesta se describe por la relación

$$S = kP + k_d \quad (7-19)$$

donde k_d representa la corriente oscura, que suele ser constante durante períodos cortos de medida. Los instrumentos con detectores que producen una corriente oscura suelen ir equipados con un circuito compensador que reduce k_d a cero; en ese caso, se aplica la Ecuación 7-18.

Tipos de detectores de radiación¹⁹

Como se indicó en la Figura 7-3b, existen dos tipos generales de detectores de radiación; uno responde a los fotones y el otro al calor. Todos los detectores de fotones (también denominados detectores *fotodéctricos* o cuánticos) tienen una superficie activa, que es capaz de absorber radiación. En algunos tipos, la energía absorbida causa la emisión de electrones y el desarrollo de una fotocorriente. En otros, la radiación promueve electrones a las bandas de conducción; en este caso, la detección se basa en el aumento de la conductividad resultante (*fotoducción*). Los detectores de fotones son muy usados para medir las radiaciones ultravioleta, visible e infrarroja cercana. Cuando se utilizan para radiaciones de longitud de onda mayor de 3 μm , se deben enfriar a la temperatura del hielo seco o del nitrógeno líquido para evitar las interferencias del ruido térmico de fondo. Los detectores fotoeléctricos difieren de los detectores de calor en que la señal eléctrica de los primeros es consecuencia de una serie de sucesos individuales (absorción de fotones individuales), cuya probabilidad se puede describir estadísticamente. Por el contrario, los detectores térmicos, que se emplean mucho en la detección de la radiación infrarroja, responden a la potencia promedio de la radiación incidente.

Como ya se vio en el Apartado 5B-2, la diferencia entre detectores de fotones y de calor es importante, ya que el ruido de disparo, a menudo, limita el comportamiento de los primeros, mientras que el ruido térmico suele limitar el de los últimos. Por tanto, los errores indeterminados relacionados con ambos tipos de detectores son básicamente diferentes.

La Figura 7-25 muestra la respuesta espectral relativa de varias clases de detectores que se utili-

¹⁹ Para una explicación de los detectores ópticos de radiación, véase E. L. Dereniak y D. G. Crowe, *Optical Radiation Detectors*. New York: Wiley, 1984; F. Grum y R. J. Becherer, *Optical Radiation Measurements*, Vol. 1. New York: Academic Press, 1979; J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, págs. 106-117. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 1988.

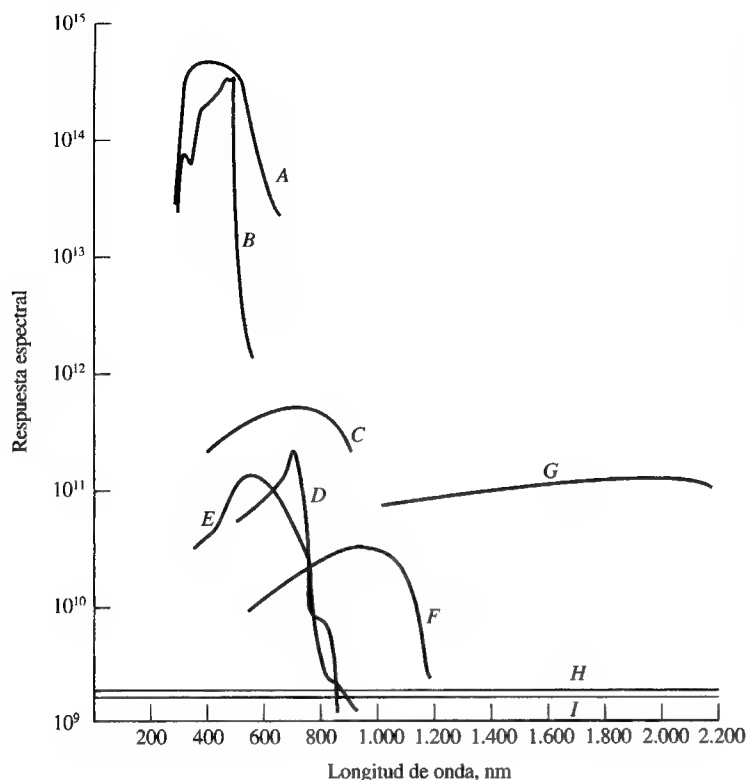


Figura 7-25. Respuesta relativa de varios tipos de detectores fotoeléctricos (A-G) y detectores de calor (H, I): A, tubo fotomultiplicador; B, célula de fotoconductividad de CdS; C, célula fotovoltaica de GaAs; D, célula de fotoconductividad de CdSe; E, célula fotovoltaica de Se/SeO; F, fotodiodo de silicio; G, célula de fotoconductividad de PbS; H, termopar; I, célula de Golay. (Adaptado de P. W. Druse, L. N. McGlauchlin y R. B. Quistan, *Elements of Infrared Technology*, págs. 424-425. New York: Wiley, 1962. Reproducción autorizada de John Wiley & Sons Inc.)

zan en espectroscopia ultravioleta, visible e infrarrojo. La función del eje de ordenadas está relacionada inversamente con el ruido del detector y directamente con la raíz cuadrada del área de superficie. Obsérvese que la sensibilidad relativa de los detectores térmicos (curvas H e I) es independiente de la longitud de onda, pero bastante menor que la sensibilidad de los detectores fotoeléctricos. Por otro lado, los detectores de fotones, con frecuencia, se alejan del comportamiento ideal respecto a la respuesta constante frente a la longitud de onda.

7E-2. Detectores de fotones

Existen diferentes tipos de detectores de fotones, tales como: (1) células fotovoltaicas, en las que la energía radiante genera una corriente en la interfase entre una capa semiconductor y un metal; (2) fototubos, en los que la radiación causa la emisión de electrones de una superficie sólida fotosensible; (3) tubos fotomultiplicadores, que contienen una superficie fotoemisora, así como varias superficies adicionales que emiten una cascada de electrones

cuando son alcanzadas por los electrones procedentes del área fotosensible; (4) detectores de fotoconductividad, en los que la absorción de la radiación por un semiconductor produce electrones y huecos, dando lugar así a un aumento de la conductividad; (5) fotodiodos de silicio, en los que los fotones aumentan la conductancia a través de una unión *pn* polarizada inversamente; y (6) detectores de transferencia de carga, en los que se recogen y miden las cargas desarrolladas en un cristal de silicio como resultado de la absorción de fotones²⁰.

Células fotovoltaicas o de capa-barrera

La célula fotovoltaica es un dispositivo simple que se usa para detectar y medir radiación de la región visible. La célula típica presenta la máxima sensibilidad a 550 nm aproximadamente; la respuesta disminuye hasta quizás un 10 por 100 de la máxi-

²⁰ Para una comparación de las características de funcionamiento de los tres detectores de fotones más sensibles y más utilizados, es decir, fotomultiplicadores, diodos de silicio y dispositivos de transferencia de carga, véase W. E. L. Grossman, *J. Chem. Educ.*, **1989**, 66, 697.

ma a 350 y 750 nm (véase Fig. 7-25E). Este intervalo es similar al del ojo humano.

La célula fotovoltaica consiste en un electrodo plano de cobre o hierro sobre el que se deposita una capa de material semiconductor, como selenio (véase Fig. 7-26). La superficie externa del semiconductor se recubre con una fina película metálica transparente de oro o plata, que sirve como segundo electrodo o electrodo colector; todo el conjunto se protege con una envoltura transparente. Cuando al semiconductor le llega una radiación de suficiente energía, se rompen los enlaces covalentes, con lo que se forman electrones y huecos conductores. Los electrones migran hacia la película metálica y los huecos hacia la base en la que se depositó el semiconductor. Los electrones liberados migran libremente a través del circuito externo para interaccionar con estos huecos. El resultado es una corriente eléctrica cuya magnitud es proporcional al número de fotones que inciden sobre la superficie del semiconductor. Normalmente, las corrientes producidas por una célula fotovoltaica son lo bastante grandes para ser medidas con un microamperímetro; si la resistencia del circuito externo es pequeña ($<400\ \Omega$), la fotocorriente es directamente proporcional a la potencia de la radiación que incide en la célula. Las corrientes típicas son del orden de 10 a $100\ \mu\text{A}$.

Las células de capa-barrera constituyen un medio robusto y barato de medir la potencia radiante. No requieren una fuente externa de energía eléctrica. Sin embargo, la pequeña resistencia interna de la célula dificulta la amplificación de su señal de salida. Por consiguiente, aunque la célula fotovoltaica proporciona fácilmente una respuesta medible a niveles elevados de iluminación, carece de sensibilidad a niveles bajos. Otra desventaja de las células del tipo-barrera es que manifiestan *fatiga*, que es la disminución gradual de la corriente de salida durante una iluminación continuada; este efecto se minimiza con un diseño del circuito y una

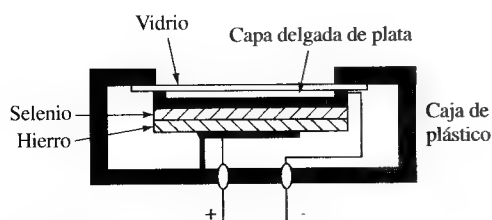


Figura 7-26. Esquema de una típica célula capa-barrera.

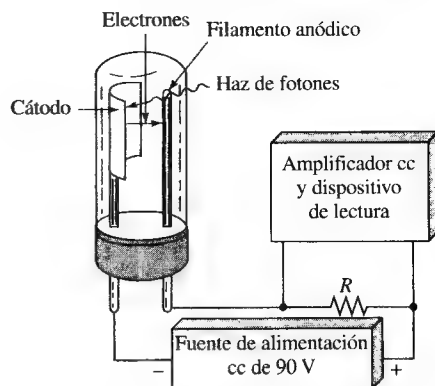


Figura 7-27. Fototubo y circuito auxiliar. La fotocorriente inducida por la radiación origina una caída de potencial a través de R , que se amplifica y envía a un medidor o registrador.

elección de las condiciones experimentales adecuados. Las células tipo-barrera se usan en instrumentos sencillos y portátiles, en los que son importantes la robustez y el bajo coste. Estos instrumentos, con frecuencia, proporcionan datos analíticos perfectamente fiables para análisis de rutina.

Fototubos de vacío²¹

Un segundo tipo de dispositivo fotoeléctrico es el fototubo de vacío, que consiste en un cátodo semicilíndrico y un ánodo de filamento encerrados herméticamente en un recipiente transparente a vacío (véase Fig. 7-27). La superficie cóncava del electrodo está recubierta de una capa de material fotoemisor (Apartado 6C-1) que al ser irradiado tiende a emitir electrones. Cuando se aplica un potencial a través de los electrodos, los electrones emitidos fluyen hacia el ánodo de filamento generando una fotocorriente que, para una intensidad radiante dada, suele ser la décima parte de la de una célula fotovoltaica. Sin embargo, la amplificación se logra fácilmente, ya que el fototubo tiene una resistencia eléctrica elevada.

El número de electrones emitidos por una superficie fotoemisora es directamente proporcional a la potencia radiante del haz que incide en la superficie. La fracción de electrones emitidos que llega al ánodo aumenta rápidamente, cuando lo hace el potencial aplicado a través de los dos electrodos del tubo; cuando se alcanza el potencial de

²¹ Para una explicación de los fototubos de vacío y de los tubos fotomultiplicadores, véase F. E. Lytle, *Anal. Chem.*, **1974**, 46, 545A.

saturación, prácticamente todos los electrones son recogidos en el ánodo. La corriente llega a ser, entonces, independiente del potencial y directamente proporcional a la potencia radiante. Los fototubos suelen funcionar a un potencial de unos 90 V, que está dentro de la región de saturación.

Los fototubos comerciales usan una gran variedad de superficies fotoemisoras. Algunos ejemplos característicos se muestran en la Figura 7-28. Desde el punto de vista del usuario, las superficies fotoemisoras se dividen en cuatro categorías: altamente sensibles, sensibles al rojo, sensibles al ultravioleta y de respuesta plana. Los cátodos más sensibles son los del tipo bialcalino, como el número 117 de la Figura 7-28; están compuestos de potasio, cesio y antimonio. Los materiales sensibles al rojo son del tipo multialcalino (Na/K/Cs/Sb por ejemplo) o compuestos Ag/O/Cs. El comportamiento de este último se indica en la figura como S-11. Compuestos de Ga/In/As amplían la región del rojo hasta unos $1,1 \mu\text{m}$. La mayoría de los compuestos son sensibles al ultravioleta siempre que el tubo esté provisto de ventanas transparentes. Los de respuesta plana se obtienen con compuestos de Ga/As, como el indicado en la Figura 7-28 con el número 128.

Los fototubos suelen producir una pequeña corriente oscura (véase la Ecuación 7-19), resultante de la emisión de electrones inducida térmicamente y de la radiactividad natural del ^{40}K del recipiente de vidrio del tubo.

Tubos fotomultiplicadores

Para la medida de potencias radiantes pequeñas, el tubo fotomultiplicador (PTM) ofrece algunas ven-

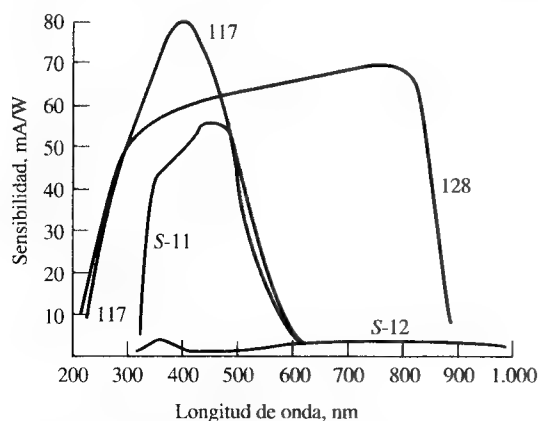


Figura 7-28. Respuesta espectral de algunas superficies fotoemisoras características.

tajas respecto al fototubo normal²². La Figura 7-29 representa un esquema de dicho dispositivo. La superficie del fotocátodo es de composición similar a las de los fototubos descritos en la Figura 7-28, emitiendo electrones al ser expuesta a la radiación. El tubo contiene también unos electrodos adicionales (nueve en Fig. 7-29) denominados *dínodos*. El dínodo 1 se mantiene a un potencial de 90 V más positivo que el del cátodo y, por tanto, los electrones se aceleran hacia él. Al incidir sobre el dínodo, cada fotoelectrón origina la emisión de varios electrones adicionales; éstos a su vez son acelerados hacia el dínodo 2, el cual está a 90 V más positivo que el dínodo 1. De nuevo, por cada electrón que incide sobre la superficie se emiten varios electrones. Después de repetirse este proceso nueve veces, se han originado de 10^6 a 10^7 electrones por cada fotón incidente; esta cascada se recoge al final en el ánodo y la corriente resultante se amplifica electrónicamente y se mide.

Tal como se indicó en la Figura 7-25A, los fotomultiplicadores son muy sensibles a la radiación ultravioleta y visible; además, tienen tiempos de respuesta extremadamente rápidos. A menudo, la sensibilidad de un instrumento con un detector fotomultiplicador viene limitada por su emisión de corriente oscura. El funcionamiento de un fotomultiplicador puede mejorarse enfriándolo, porque la emisión térmica es la fuente principal de los electrones de la corriente oscura. De hecho, las corrientes oscuras térmicas pueden eliminarse virtualmente si se enfría el detector a -30°C . Existen en el comercio detectores que pueden enfriarse mediante recirculación de un refrigerante adecuado.

Los tubos fotomultiplicadores se limitan a medir radiación de baja potencia, debido a que la luz intensa causa un daño irreversible en la superficie fotoeléctrica. Por esta razón, el dispositivo se aloja siempre en un compartimento protegido de la luz y se toman las precauciones pertinentes para eliminar la posibilidad de exposición, incluso momentánea, a la luz del día u otra luz intensa. Con un circuito externo adecuado, los tubos fotomultiplicadores se pueden utilizar para detectar la llegada de un solo fotón al fotocátodo.

²² Para una explicación detallada de la teoría y aplicaciones de los fotomultiplicadores, véase R. W. Engstrom, *Photomultiplier Handbook*, Lancaster, PA: RCA Corporation, 1980.

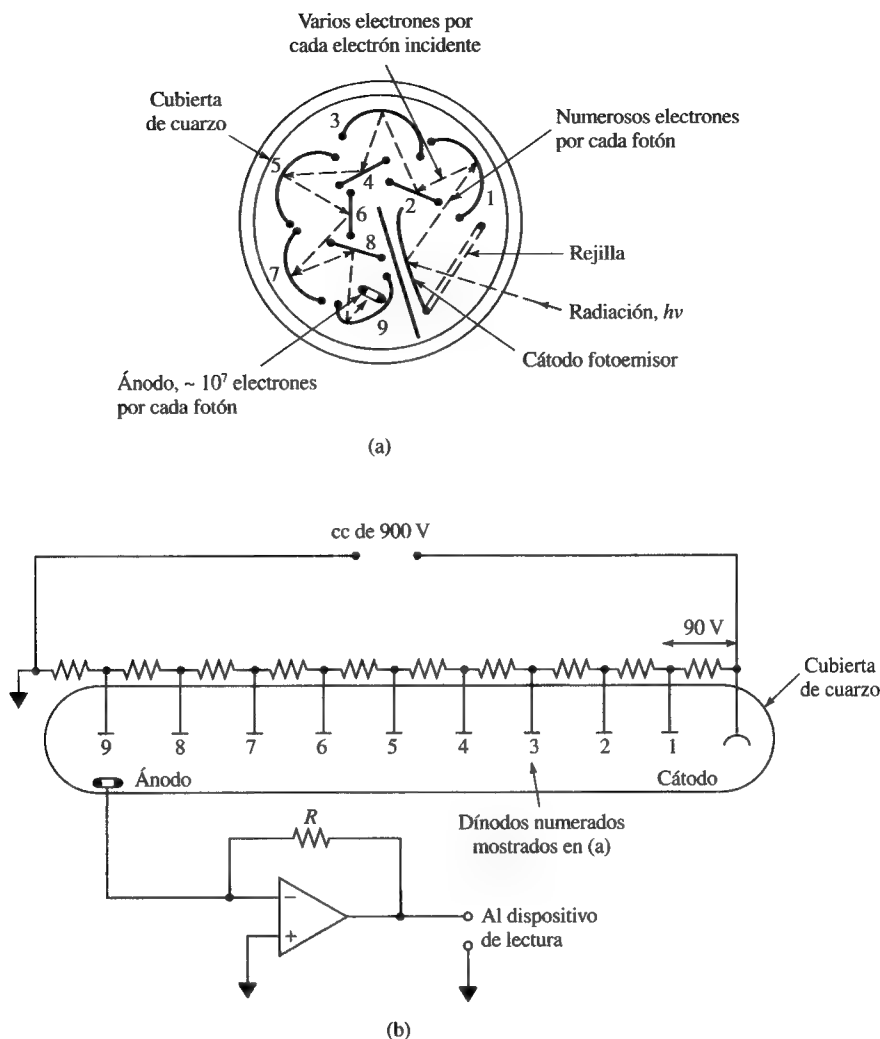


Figura 7-29. Tubo fotomultiplicador: (a) sección transversal del tubo y (b) circuito eléctrico.

Detectores de diodo de silicio

Un detector de diodo de silicio consta de una unión *pn* polarizada inversamente montada en un chip de silicio. Como muestra la Figura 7-30, la polarización inversa crea una zona de despoblación que reduce casi a cero la conductancia de la unión. Sin embargo, si se permite que la radiación incida sobre el chip, se forman en la zona de despoblación huecos y electrones que, al moverse a través del dispositivo, dan lugar a una corriente que es proporcional a la potencia radiante.

Los diodos de silicio son más sensibles que un fototubo de vacío, pero menos que un tubo fotomultiplicador (véase Fig. 7-25F). Los fotodiodos

presentan un intervalo espectral de 190 a 1.100 nm aproximadamente.

7E-3. Detectores de fotones multicanal²³

Los primeros detectores multicanal utilizados en espectroscopia fueron placas fotográficas o tiras de películas que se situaban a lo largo del plano focal

²³ Para un análisis de los detectores de fotones multicanal, véase Y. Talmi, *Appl. Spectrosc.*, **1982**, 36, 1; W. E. Grossman, *J. Chem. Educ.*, **1989**, 66, 697; J. V. Sweedler, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **1993**, 24, 59; D. G. Jones, *Anal. Chem.*, **1985**, 57, 1057A.

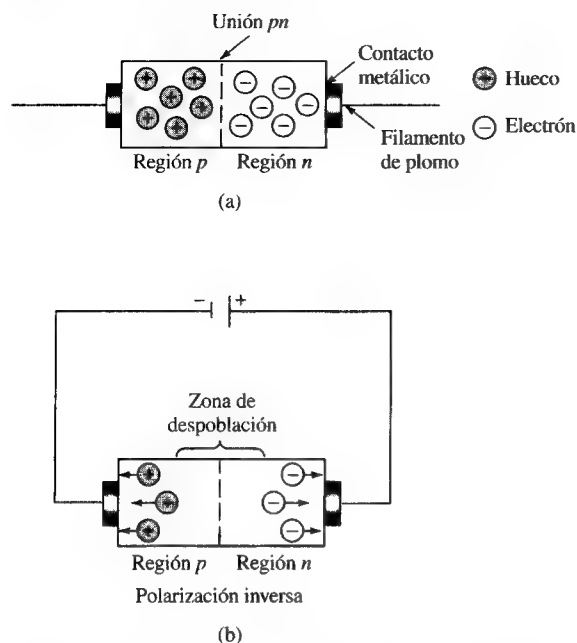


Figura 7-30. (a) Esquema de un diodo de silicio. (b) Formación de la zona de despoblación, que impide el flujo de electricidad bajo una polarización inversa.

de un espectrómetro para que todas las líneas del espectro pudieran registrarse simultáneamente. La detección fotográfica es relativamente sensible con algunas emulsiones que responden a un número de fotones de 10 a 100. Sin embargo, la primera limitación de este tipo de detector es el tiempo requerido para desarrollar la imagen del espectro y transformar el ennegrecimiento de la emulsión en intensidades radiantes.

Los detectores multicanal modernos constan de una serie de pequeños elementos fotoeléctrico-sensibles dispuestos en una estructura lineal o bidimensional en un único chip semiconductor. El chip, que suele ser de silicio y tiene unas dimensiones de pocos milímetros de lado, también contiene los circuitos electrónicos que hacen posible determinar la señal de salida eléctrica de cada elemento fotosensible bien secuencialmente, bien simultáneamente. Para estudios espectroscópicos, un detector multicanal se suele situar en el plano focal del espectrómetro para que los distintos elementos del espectro dispersado puedan ser detectados y medidos simultáneamente.

En la actualidad se utilizan tres tipos de dispositivos multicanal en los instrumentos espectroscópicos comerciales: *fotodiodos en serie* (PDA), *disposi-*

tivos de inyección de carga (CID) y *dispositivos de acoplamiento de carga* (CCD). Los fotodiodos en serie son detectores unidimensionales en los que los elementos fotosensibles están dispuestos en una línea en la cara del transductor. Por el contrario, los elementos fotosensibles individuales de los dispositivos de inyección de carga y de acoplamiento de carga suelen disponerse en series bidimensionales. Los detectores de inyección de carga y de acoplamiento de carga funcionan recogiendo las cargas fotogeneradas en distintas zonas de la superficie del transductor y posteriormente midiendo la cantidad de carga acumulada en un breve período de tiempo. En ambos dispositivos, la medida va acompañada de la transferencia de la carga desde el área de recogida hasta el área de detección. Por esta razón, los dos tipos de detectores se denominan a veces *dispositivos de transferencia de carga* (CTD). Estos dispositivos se usan ampliamente como detectores de imágenes para aplicaciones de televisión y en astronomía.

Fotodiodos en serie

En los fotodiodos en serie, los elementos fotosensibles individuales son pequeños fotodiodos de silicio, cada uno de los cuales consta de una unión pn polarizada inversamente (véase el apartado anterior). Los fotodiodos individuales constituyen una parte de un circuito integrado a gran escala montado sobre un único chip de silicio. La Figura 7-31 muestra la geometría de la región superficial de algunos elementos de detección. Cada elemento consiste en una barra de tipo p difundida en un sustrato de silicio de tipo n para originar una región superficial consistente en una serie de elementos intercalados que tienen unas dimensiones típicas de 2,5 por 0,025 mm (Fig. 7-31b). La luz que incide sobre estos elementos crea cargas en ambas regiones p y n. Las cargas positivas se recogen y almacenan en las barras tipo p para su siguiente integración (las cargas formadas en las regiones n se dividen proporcionalmente entre las dos regiones p adyacentes). El número de elementos de detección contenidos en un chip oscila entre 64 y 4.096, siendo tal vez 1.024 el más empleado.

El circuito integrado constituido por una serie de diodos, dispone también de un condensador de almacenamiento y un conmutador para cada diodo, así como un circuito para realizar un barrido secuencial de los circuitos individuales de diodo-condensador. La Figura 7-32 representa un diagra-

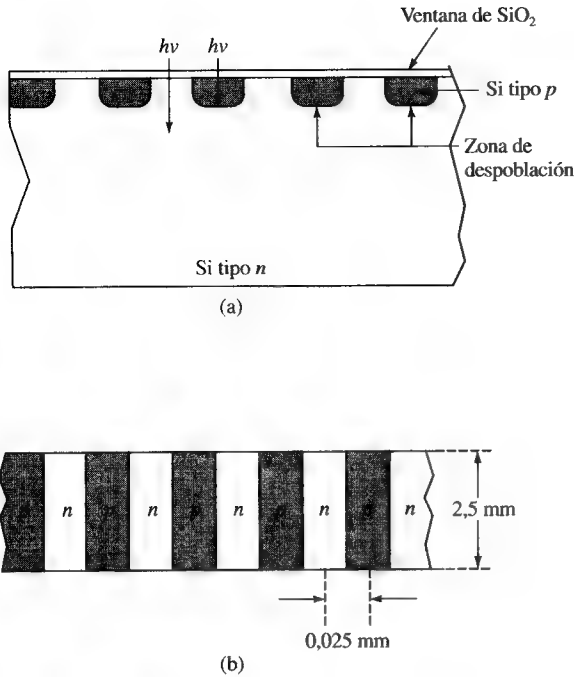


Figura 7-31. Detector de diodos en serie polarizados inversamente: (a) sección transversal y (b) vista superior.

ma simplificado de la disposición de estos componentes. Obsérvese que hay un condensador de almacenamiento de 10 pF en paralelo junto a cada fotodiodo. Cada par diodo-condensador se conecta secuencialmente a una línea de salida común a través de un registro de desplazamiento de N bites y

conmutadores transistorizados. El registro de desplazamiento cierra secuencialmente cada uno de estos conmutadores momentáneamente haciendo que se cargue el condensador a -5 V, lo que crea una polarización inversa a través de la unión pn del detector. La radiación que incide sobre la zona de despoblación, ya sea en la región p o en la n , origina cargas (electrones y huecos) que crean una corriente que descarga parcialmente el condensador del circuito. La carga del condensador que se pierde de esta manera se reemplaza durante el ciclo siguiente. El circuito preamplificador integra la corriente de carga resultante, produciéndose una tensión que es proporcional a la intensidad radiante. Después de la amplificación, la señal analógica del preamplificador pasa a un convertidor analógico-digital y a un microprocesador que controla la lectura de salida.

Al usar un detector de diodos en serie, la anchura de la rendija del espectrómetro se suele ajustar de forma que la imagen de la rendija de entrada ocupe exactamente el área superficial de uno de los diodos que componen la serie. Así, la información obtenida es equivalente a la registrada durante un barrido con un espectrómetro tradicional. Sin embargo, con esta disposición, la información del espectro completo se acumula esencialmente de forma simultánea y en elementos discretos antes que de forma continua.

Algunos de los detectores fotoconductores mencionados en el apartado anterior también pueden fabricarse en serie para utilizarlos en la región infrarroja.

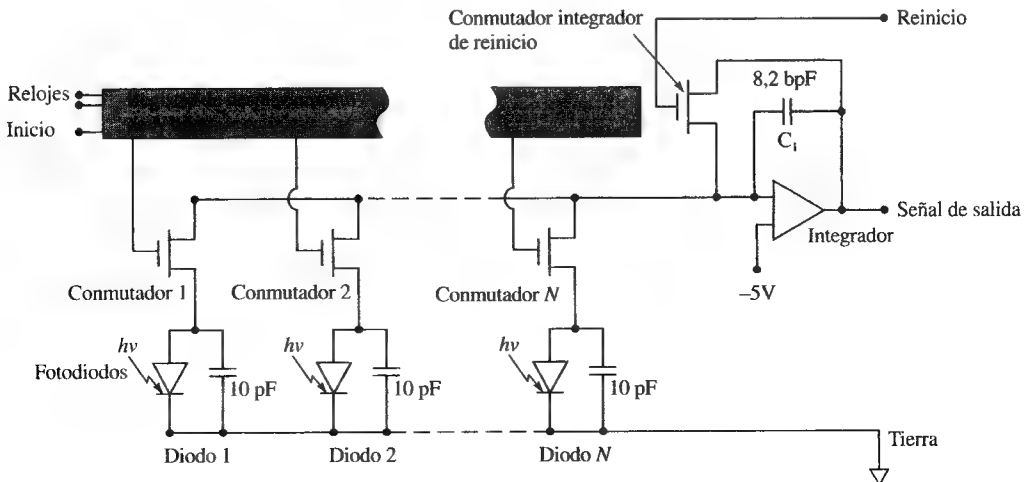


Figura 7-32. Diagrama de bloques de un chip detector de fotodiodos en serie.

Dispositivos de transferencia de carga

Los fotodiodos en serie no pueden compararse con el funcionamiento de los tubos fotomultiplicadores en términos de sensibilidad, intervalo dinámico y relación señal/ruido. Por tanto, su uso se limita a circunstancias en las que las ventajas del multicanal superen a sus inconvenientes. Por el contrario, las características de funcionamiento de los dispositivos de transferencia de carga parecen aproximarse a las de los tubos fotomultiplicadores y, además, tienen la ventaja de ser multicanal. Por ello, este tipo de detectores se emplea cada vez más en los modernos instrumentos espectroscópicos²⁴. Otra ventaja de los dispositivos de transferencia de carga es que son bidimensionales, es decir, sus elementos de detección individuales están dispuestos en filas y columnas. Por ejemplo, un detector que se describe en el apartado próximo consta de 244 filas de elementos transductores, cada fila a su vez está compuesta por 388 elementos de detección, creando una disposición bidimensional de 19.672 transductores individuales, o *pixels*, en un chip de silicio con unas dimensiones de 6,5 mm por 8,7 mm. Con este dispositivo es posible registrar un espectro completo bidimensional simultáneamente en un espectrómetro de red de escalera (Fig. 7-21).

Los dispositivos de transferencia de carga se parecen, en la forma de trabajar, a una película fotográfica en cuanto a que integran la señal en información a medida que la radiación incide sobre ellos. La Figura 7-33 corresponde a una vista transversal de uno de los *pixels* que componen el dispositivo de transferencia de carga. En este caso, el *pixel* consta de dos electrodos conductores que se sitúan por encima de la capa aislante de sílice (obsérvese que en un dispositivo de transferencia de carga un *pixel* está compuesto por más de dos electrodos). La capa de sílice separa los electrodos de una región de silicio *n*-dopado. Este montaje constituye un condensador semiconductor de óxido de metal que almacena las cargas formadas mientras la radiación incide sobre el silicio dopado. Como se indica, cuando se aplica una carga negativa a los electrodos, se crea una región de inversión de carga bajo los electrodos, que es muy favorable al alma-

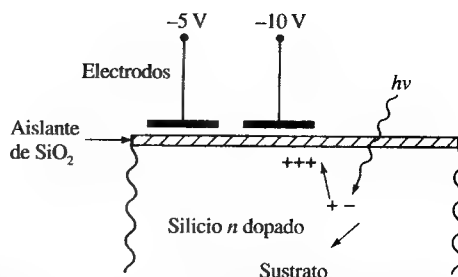


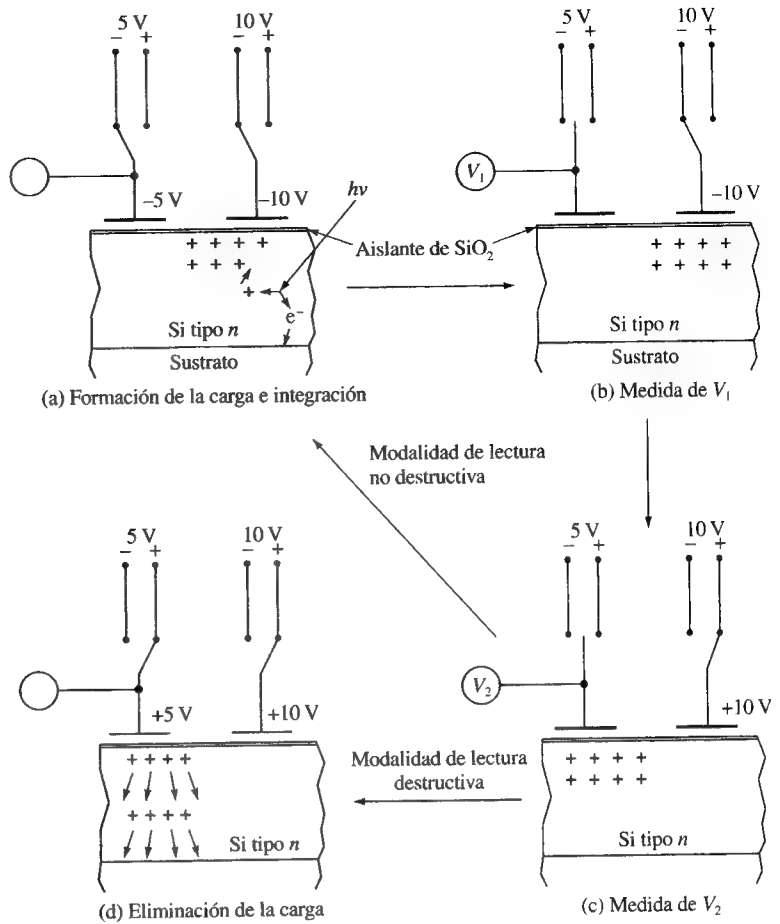
Figura 7-33. Sección transversal de un detector CTD en la modalidad de integración de la carga. El hueco positivo producido por el fotón $h\nu$ se recoge bajo el electrodo negativo.

cenamiento de huecos. Los huecos móviles creados por la absorción de fotones migran y se recogen en esta región. Generalmente, esta región, denominada *pozo de potencial*, es capaz de mantener de 10^5 a 10^6 cargas antes de que pasen al *pixel* contiguo. En la figura, un electrodo aparece como más negativo que el otro, haciendo que la acumulación de carga bajo este electrodo sea más favorable. La cantidad de carga generada durante la exposición a la radiación se mide de dos maneras. En un *dispositivo de inyección de carga*, se mide el cambio de potencial resultante del movimiento de la carga desde la región bajo uno de los electrodos hasta la región debajo del otro. En un *dispositivo de acoplamiento de carga*, la carga se mueve hasta un amplificador sensible a la carga para su medida.

Dispositivos de inyección de carga. La Figura 7-34 representa un diagrama simplificado que muestra las etapas implicadas en la recogida, almacenamiento y medida de la carga generada cuando un *pixel* de un semiconductor se expone a los fotones. Para controlar la intensidad de la radiación que incide sobre el elemento sensible, los potenciales aplicados a los condensadores siguen las etapas (a) a (d) del ciclo que se muestra en la figura. En la etapa (a), se aplican a los dos electrodos potenciales negativos, que dan lugar a la formación de pozos de potencial que recogen y almacenan los huecos formados en la capa *n* al absorber los fotones. Todos los huecos se retienen inicialmente en el electrodo de la derecha, ya que está a un potencial más negativo. La magnitud de la carga recogida en un breve intervalo de tiempo se determina en las etapas (b) y (c). En (b), el potencial del condensador de la izquierda (V_1) se determina después de la eliminación del potencial aplicado. En la etapa (c), los huecos acumulados en el electrodo de la derecha se transfieren al pozo de potencial debajo del

²⁴ Para detalles sobre los dispositivos de transferencia de carga, véase J. V. Sweedler, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **1993**, 24, 59; J. V. Sweedler, R. B. Bilhorn, P. M. Epperson, G. R. Sims y M. B. Denton, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, 282A, 327A; *Charge-Transfer Devices in Spectroscopy*, J. V. Sweedler, K. L. Ratzlaff, y M. B. Denton, Eds. New York: Wiley, 1994.

Figura 7-34. Ciclo obligatorio de un dispositivo de inyección de carga: (a) producción y almacenamiento de la carga, (b) primera medida de la carga, (c) segunda medida de la carga tras la transferencia de carga, (d) reinyección de la carga al semiconductor.



electrodo de la izquierda al conmutar de negativo a positivo el potencial aplicado al primero. Se mide, entonces, el nuevo potencial del electrodo V_2 . La magnitud de la carga acumulada se determina a partir de la diferencia de potencial ($V_1 - V_2$). En la etapa (d), al aplicar potenciales positivos a ambos electrodos, el detector vuelve a su estado original, lo que hace que los huecos migren al sustrato. Sin embargo, como alternativa a la etapa (d), el detector puede volver a las condiciones de la etapa (a) sin pérdida de la carga que ya ha acumulado. Este proceso se denomina *modalidad de lectura no destructiva* (NDRO). La principal ventaja de los dispositivos de inyección de carga sobre los dispositivos de acoplamiento de carga es que se pueden realizar medidas sucesivas mientras se produce la integración.

Al igual que para el detector de diodos en serie, el chip que contiene la serie de elementos transductores de inyección de carga también dispone de los circuitos integrados adecuados para realizar las etapas cíclicas y de medida.

Dispositivos de acoplamiento de carga. Diversos fabricantes comercializan una gran variedad de dispositivos de acoplamiento de carga tanto de forma como de configuración. La Figura 7-35a muestra la disposición de los detectores individuales en una serie típica compuesta por 512×320 pixels. Hay que destacar que, en este caso, el semiconductor está formado por silicio tipo *p* y el condensador está polarizado positivamente, de manera que los electrones formados por la absorción de radiación se recogen en el pozo debajo del electrodo, mientras que los huecos migran de la capa tipo *n* hacia el sustrato. Obsérvese también que cada pixel está compuesto por tres electrodos (marcados como 1, 2, y 3 en la Fig. 7-35b), en vez de dos como en el caso del dispositivo de inyección de carga. Para medir la carga acumulada, se utiliza un circuito trifásico de reloj para desplazar gradualmente la carga hacia la derecha del registro de desplazamiento de elevada velocidad, mostrado en la Figura 7-35a. Entonces, las cargas se transfieren hacia abajo al

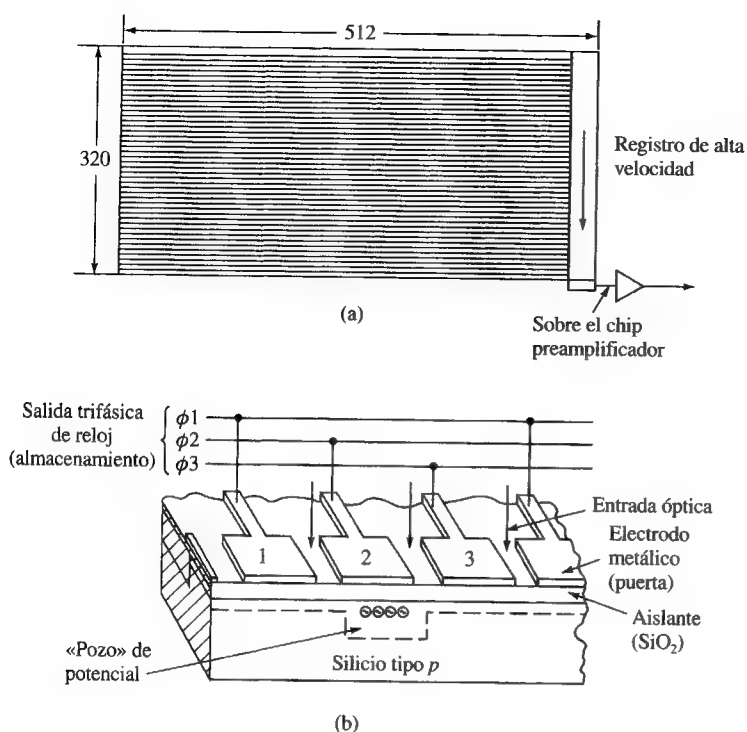


Figura 7-35. Dispositivo de acoplamiento de carga en serie: (a) disposición de 512×320 píxels y (b) esquema que muestra cuatro de los detectores individuales.

preamplificador y después al dispositivo de lectura. De esta manera, se completa un barrido fila por fila de la superficie del detector. A diferencia del dispositivo de inyección de carga, la lectura neutraliza la carga acumulada en este caso. Los dispositivos de acoplamiento de carga ofrecen la ventaja de una mayor sensibilidad a niveles bajos de luz. Sin embargo, en algunos casos, la naturaleza destructiva de su proceso de lectura es una desventaja.

7E-4. Detectores de fotoconductividad

Los detectores más sensibles para el control de la radiación en la región del infrarrojo cercano ($0,75$ a $3 \mu\text{m}$) son semiconductores cuya resistencia disminuye cuando absorben radiación de este intervalo. El intervalo útil de los fotoconductores se puede ampliar hasta la región del infrarrojo lejano enfriando para suprimir el ruido procedente de las transiciones inducidas térmicamente entre los niveles de energía más cercanos. Esta aplicación de los fotoconductores es importante en la instrumentación de transformada de Fourier en el infrarrojo. Los semiconductores cristalinos están constituidos por sulfuros, seleniuros y antimoniuros de metales como plomo, cadmio, galio e indio. La absorción de la ra-

diación por estos materiales promueve algunos de sus electrones de enlace a un estado de energía en el que conducen libremente la electricidad. La variación de conductividad resultante se puede medir con un circuito como el de la Figura 3-10a.

El sulfuro de plomo es el material fotoconductor más utilizado y tiene la ventaja de poder usarse a temperatura ambiente. Los detectores de sulfuro de plomo son sensibles en la región entre $0,8$ y $3 \mu\text{m}$ (12.500 a 3.300 cm^{-1}). Para formar la célula se deposita una capa fina de este compuesto sobre unas placas de vidrio o de cuarzo. Para proteger al semiconductor de la reacción atmosférica, todo el conjunto se encierra herméticamente en un recipiente a vacío. La sensibilidad de los detectores de sulfuro de cadmio, seleniuro de cadmio y sulfuro de plomo se muestra en las curvas B, D y G de la Figura 7-25.

7E-5. Detectores térmicos²⁵

Los fotodetectores considerados hasta el momento, en general, no son adecuados para la región del in-

²⁵ Para un buen estudio de los detectores ópticos de radiación de cualquier tipo, incluyendo los detectores térmicos, véase E. L. Dereniak y G. D. Growe, *Optical Radiation Detectors*. New York: Wiley, 1984.

frarrojo, ya que los fotones de esta región no tienen la suficiente energía para causar la fotoemisión de electrones. Por ello, se deben utilizar los detectores térmicos o los detectores de fotoconductividad (véase el Apartado 7E-4). Ninguno de éstos es tan satisfactorio como los detectores de fotones.

En los detectores térmicos, la radiación incide sobre un pequeño cuerpo negro y es absorbida por él; se mide el aumento de temperatura resultante. El nivel de potencia radiante de un haz infrarrojo típico es mínimo (10^{-7} a 10^{-9} W), por ello la capacidad calorífica del elemento absorbente debe ser lo más pequeña posible para producir un cambio de temperatura detectable. Se hace todo lo posible para reducir al mínimo el tamaño y el espesor del elemento absorbente y concentrar todo el haz infrarrojo en su superficie. En el mejor de los casos, los cambios de temperatura se limitan a unas pocas milésimas de un grado kelvin.

El problema de la medida de la radiación infrarroja por medios térmicos se complica por el ruido térmico del medio circundante. Por este motivo, los detectores térmicos se mantienen a vacío y se protegen cuidadosamente de la radiación térmica emitida por otros objetos cercanos. Para minimizar aún más los efectos de fuentes caloríficas extrañas, el haz de la fuente se hace incidir habitualmente de modo intermitente. De este modo, la señal del analito, después de la detección, tiene la frecuencia del cortador y se puede separar electrónicamente de una forma fácil de las señales extrañas, las cuales varían sólo lentamente con el tiempo.

Termopares

En su forma más sencilla, un termopar consiste en un par de uniones que se forman soldando los extremos de dos piezas de un metal, como cobre, a otro metal distinto como constantán, como se muestra en la Figura 3-11. Entre las dos uniones se genera un potencial que varía con la *diferencia* de temperatura de las uniones.

El detector de unión para radiación infrarroja se forma con filamentos muy finos de bismuto y antimonio o evaporando los metales sobre un soporte no conductor. En cada caso, la unión se suele ennegrecer para mejorar su capacidad de absorber calor y se cierra herméticamente en una cámara a vacío con una ventana que es transparente a la radiación infrarroja.

La unión de referencia, que generalmente se mantiene en la misma cámara que la unión activa,

se diseña para que tenga una capacidad calorífica relativamente grande y se protege cuidadosamente de la radiación incidente. Como la señal del analito es intermitente, sólo es importante la diferencia de temperatura entre las dos uniones; por ello, la unión de referencia no necesita mantenerse a temperatura constante. Para mejorar la sensibilidad, se pueden conectar varios termopares en serie para formar lo que se denomina una *termopila*.

Un detector termopar bien diseñado es capaz de responder a diferencias de temperatura de 10^{-6} K. Esta diferencia corresponde a una diferencia de potencial de 6 a 8 $\mu\text{V}/\mu\text{W}$ aproximadamente. El termopar de un detector de infrarrojo es un dispositivo de baja impedancia que generalmente se conecta a un preamplificador diferencial de alta impedancia, como el circuito con transistor de efecto de campo mostrado en la Figura 7-36. Un seguidor de tensión, como el que aparece en la Figura 3-7, también se utiliza como un acondicionador de señal en los circuitos del detector de termopar.

Bolómetros

Un bolómetro es un tipo de termómetro de resistencia construido con láminas de metales, como platino o níquel, o a partir de un semiconductor; estos últimos dispositivos frecuentemente se denominan *termistores*. Estos materiales muestran un cambio de resistencia relativamente grande en función de la temperatura. El elemento sensible es pequeño y está ennegrecido para absorber el calor radiante. Los bolómetros no se utilizan tanto como los otros detectores del infrarrojo en la región del infrarrojo medio. Sin embargo, un bolómetro de germanio, que funciona a 1,5 K, es casi un detector ideal para la radiación comprendida entre 5 y 400 cm^{-1} (2.000 a $25\text{ }\mu\text{m}$).

Detectores piroeléctricos

Los detectores piroeléctricos se construyen a partir de una lámina cristalina de *materiales piroeléctricos*, que son aislantes (materiales dieléctricos) con unas propiedades térmicas y eléctricas muy especiales. El sulfato de triglicina $(\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH})_3 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ (generalmente deuterado o con una fracción de glicinas sustituidas por alanina), es el material piroeléctrico más importante utilizado en la construcción de detectores de infrarrojo.

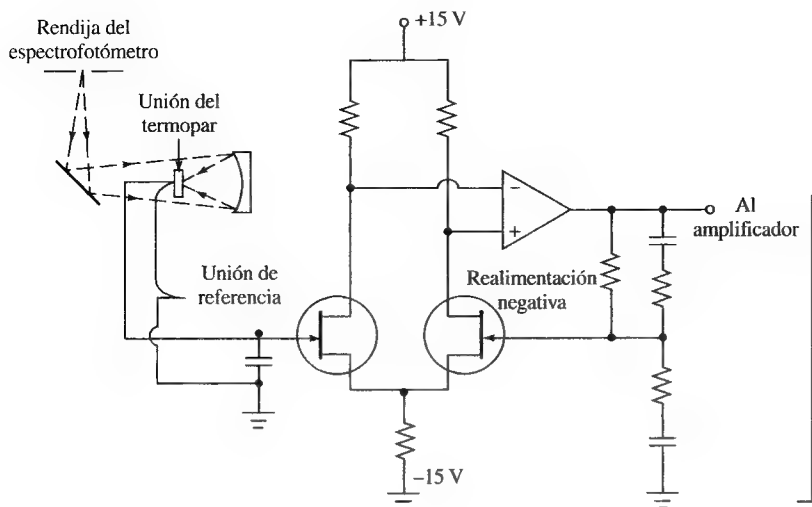


Figura 7-36. Termopar y preamplificador. (Adaptado de G. W. Ewing, J. Chem. Educ., 1971, 48, A521. Reproducción autorizada.)

Cuando se aplica un campo eléctrico a través de cualquier material dieléctrico, se produce una polarización eléctrica cuya magnitud es función de la constante dieléctrica del material. Para la mayoría de los dieléctricos, esta polarización inducida disminuye rápidamente hasta cero cuando se elimina el campo externo. Por el contrario, las sustancias piroeléctricas mantienen una fuerte polarización dependiente de la temperatura después de eliminar el campo. Así, colocando el cristal piroeléctrico entre dos electrodos (uno de ellos es transparente a la radiación infrarroja) se obtiene un condensador dependiente de la temperatura. Cambiando su temperatura al irradiarlo con radiación infrarroja se altera la distribución de las cargas a través del cristal, lo que crea una corriente medible en el circuito eléctrico externo que une los dos lados del condensador. La magnitud de esta corriente es proporcional al área superficial del cristal y a su velocidad de cambio de polarización con la temperatura. El cristal piroeléctrico pierde su polarización residual cuando se calienta a una temperatura denominada el *punto Curie*. Para el sulfato de triglicina, el punto Curie es de 47 °C.

Los detectores piroeléctricos presentan tiempos de respuesta lo suficientemente rápidos como para poder seguir las variaciones en la señal de dominio del tiempo con un interferómetro. Por esta razón, la mayoría de los espectrómetros de infrarrojo de transformada de Fourier utilizan este tipo de detector.

7F. PROCESADORES DE SEÑAL Y DISPOSITIVOS DE LECTURA

El procesador de señal es generalmente un dispositivo electrónico que amplifica la señal eléctrica del detector. Además, puede cambiar la señal de corriente continua a corriente alterna (o a la inversa), cambiar la fase de la señal y filtrarla para eliminar los componentes no deseados. Además, el procesador de señal puede utilizarse para llevar a cabo operaciones matemáticas en la señal como diferenciar, integrar o convertir a logaritmo.

Existen distintos tipos de dispositivos de lectura en los instrumentos modernos. Algunos de ellos son el medidor d'Arsonval, medidores digitales, escalas de potenciómetros, registradores y tubos de rayos catódicos.

7F-1. Recuento de fotones

La señal de salida de un tubo fotomultiplicador provoca un impulso de electrones por cada fotón que alcanza la superficie del detector. En general, esta señal analógica se filtra para eliminar las fluctuaciones indeseables, debido a la aparición aleatoria de fotones en el fotocátodo y que son medidos como corriente o tensión de corriente continua. Sin embargo, si la intensidad de la radiación es demasiado baja para proporcionar una relación señal/ruido satisfactoria, es posible, y con frecuencia ventajoso, convertir la señal analógica en un tren de im-

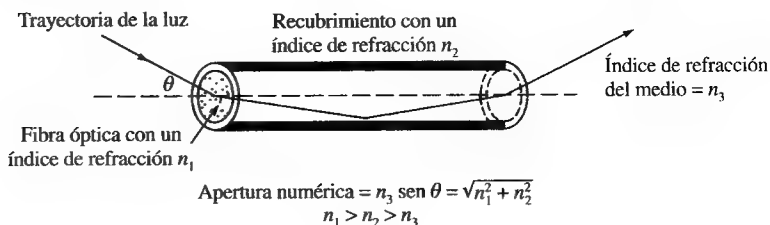


Figura 7-37. Esquema de la trayectoria de la luz a través de una fibra óptica.

pulsos digitales que se puedan contar, como se explicó en el Apartado 4C. En este caso, la potencia radiante es proporcional al número de impulsos por unidad de tiempo más que a la corriente o potencial promedio. Una medida de este tipo se denomina *recuento de fotones*.

Durante muchos años, se han usado técnicas de recuento para medir la potencia de los haces de rayos X y de la radiación producida por la desintegración de especies radiactivas (estas técnicas se estudian con detalle en los Capítulos 12 y 32). El recuento de fotones se ha aplicado también a las radiaciones ultravioleta y visible²⁶. En este caso, se utiliza la señal de salida de un tubo fotomultiplicador. En el apartado anterior se indicó que un solo fotón que incide sobre el cátodo de un fotomultiplicador, origina, al final, una cascada de 10^6 a 10^7 electrones, que dan lugar a un impulso de corriente que puede amplificarse y contarse.

En general, la instrumentación para el recuento de fotones es similar al mostrado en la Figura 4-2, en la que un discriminador rechaza los impulsos, a no ser que sobrepasen una tensión mínima predefinida. El discriminador es útil para esta tarea, porque la corriente oscura y el ruido del instrumento, a menudo, son bastante menores que el impulso de la señal y, por tanto, no se cuentan, aumentando así la relación señal/ruido.

El recuento de fotones presenta una serie de ventajas respecto al tratamiento analógico de la señal, tales como mejora de la relación señal/ruido, sensibilidad a niveles bajos de radiación, mejora de la precisión para un tiempo dado de medida y menor sensibilidad a las fluctuaciones de tensión y temperatura del tubo fotomultiplicador. Sin embargo, la instrumentación necesaria es más compleja y cara; la técnica todavía no se ha aplicado de manera generalizada para medidas rutinarias de absorción molecular en la región ultravioleta y visible.

Sin embargo, es el método de elección para la detección en fluorescencia, quimioluminiscencia y espectrometría Raman, donde los niveles de potencia radiante son bajos.

7G. FIBRAS ÓPTICAS

En los últimos años de la década de los sesenta, empezaron a aparecer en el mercado instrumentos analíticos que contenían fibras ópticas para transmitir la radiación y las imágenes de un componente a otro del instrumento. Estos dispositivos tan útiles han añadido una nueva dimensión a los diseños de los instrumentos ópticos²⁷.

7G-1. Propiedades de las fibras ópticas

Las fibras ópticas son hebras finas de vidrio o plástico capaces de transmitir la radiación a distancias de varios centenares de metros o más. El diámetro de las fibras ópticas oscila de $0,05 \mu\text{m}$ hasta un valor tan grande como $0,6 \text{ cm}$. Cuando hay que transmitir imágenes, se emplean haces de fibras unidos en los extremos. Una de las principales aplicaciones de estos haces de fibras es en el diagnóstico médico, donde su flexibilidad permite la transmisión de imágenes de órganos a través de recorridos tortuosos hasta el médico. Las fibras ópticas no sólo se usan para la observación de objetos, sino también para iluminarlos; en este caso, la capacidad de iluminar sin calentar suele ser de considerable importancia.

La transmisión de la luz en una fibra óptica se produce por reflexión interna total, como se muestra en la Figura 7-37. Para que se produzca la reflexión interna total, hay que recubrir la fibra óptica con un material que tenga un índice de refracción

²⁶ Para un compendio sobre el recuento de fotones, véase H. J. Malmstadt, M. L. Franklin y G. Horlick, *Anal. Chem.*, **1972**, 44(8), 63A.

²⁷ Para un compendio de las aplicaciones de las fibras ópticas, véase I. Chabay, *Anal. Chem.*, **1982**, 54, 1071A; J. K. Crum, *Anal. Chem.*, **1969**, 41, 26A.

algo menor que el del material con el se construye la fibra. Por tanto, una fibra de vidrio característica tiene un núcleo con un índice de refracción de alrededor de 1,6 y una cubierta de vidrio que lo recubre con un índice de refracción de aproximadamente 1,5. Las fibras de plástico típicas tienen un núcleo de polimetilmetacrilato con un índice de refracción de 1,5 y un recubrimiento polimérico con un índice de refracción de 1,4.

Una fibra, como la de la Figura 7-37, transmitirá la radiación contenida en un cono incidente limitado con un ángulo medio indicado en la figura como θ . La *apertura numérica* de la fibra proporciona una medida del valor del denominado *cono de apertura*.

Si se eligen adecuadamente los materiales de construcción, se pueden fabricar fibras para la transmisión de las radiaciones ultravioleta, visible o infrarroja. En los próximos capítulos se encontrarán diversos ejemplos de su aplicación en los instrumentos analíticos convencionales.

7G-2. Sensores de fibra óptica

Los *sensores de fibra óptica*, también denominados *optrodos*, constan de una fase reactiva inmovilizada en el extremo de una fibra óptica²⁸. La interacción del analito con el reactivo produce una variación en la absorbancia, reflectancia, fluorescencia o luminiscencia, que se transmite al detector a través de la fibra óptica. Los sensores de fibra óptica son, en general, dispositivos sencillos y baratos que se miniaturizan fácilmente.

7G-3. Fibras ópticas para diferenciar señales en función del tiempo

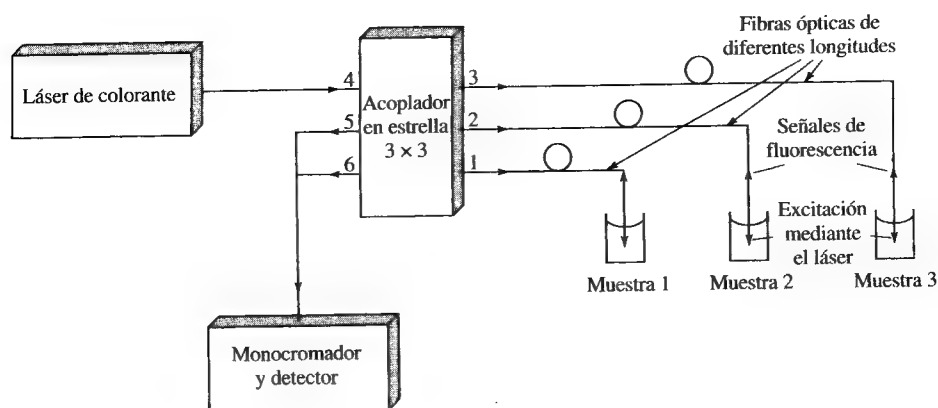
Una aplicación ingeniosa de las fibras ópticas es el uso de hebras de diferente longitud para variar el tiempo de llegada de las señales ópticas de varias fuentes a un único detector. La detección de resolución temporal permite la determinación simultánea de un analito en varias muestras mediante un único

sistema de detección²⁹. La Figura 7-38a ilustra cómo se consiguen dichas medidas. La parte más importante del sistema de detección es un *acoplador en estrella*, un dispositivo bidireccional para acoplar múltiples haces de fibras ópticas, como se ilustra en la figura. El acoplador en estrella tiene una configuración $N \times N$, donde N es el número de puertos de entrada y el número de puertos de salida, de manera que, como en este ejemplo de un acoplador de 3×3 , los tres haces de fibras ópticas se pueden acoplar adecuadamente a otros tres haces. La luz que entra por una de las seis fibras se reparte casi homogéneamente por entre todas las fibras acopladas, incluyendo la fibra de entrada. En otras palabras, cualquier luz que entra en el acoplador en estrella por una fibra se reparte de tal manera que $1/2N$ de la luz que entra, sale por cada fibra acoplada. En la práctica, el dispositivo no es eficaz al 100 por 100, ya que parte de la luz que entra se pierde en las interfases de acoplamiento, sin embargo, la luz que sale se divide aproximadamente por igual entre los seis haces de fibras ópticas acopladas de este ejemplo. Es importante tener en cuenta que aunque los acopladores en estrella están configurados mecánicamente como dispositivos $N \times N$, todos los $2N$ de los puertos son ópticamente idénticos y todos los puertos son bidireccionales.

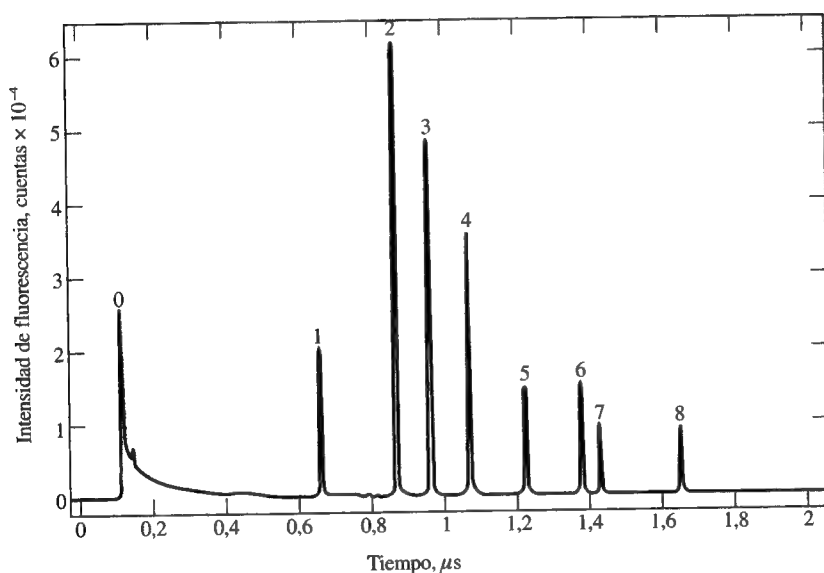
En el experimento de fluorescencia correlacionado en el tiempo mostrado en la Figura 7-38a, los impulsos de radiación de un láser de colorante pasan a uno de los cuatro puertos de un acoplador en estrella. Este dispositivo divide el haz en seis haces de potencia casi igual, tres de los cuales se dirigen, a continuación, a las fibras ópticas 1, 2 y 3, que difieren entre sí en algunos metros de longitud. Aproximadamente un sexto del láser de excitación retrocede a través de la fibra 4 sin utilizarse. Casi un tercio de la radiación de excitación sale por los puertos 5 y 6 y pasa al sistema de detección para servir como marcador de tiempo y de potencia radiante de referencia. Los extremos de las fibras 1, 2 y 3 se introducen directamente en tres disoluciones de muestra, donde sus señales de salida excitan al analito; lo cual produce, a su vez, impulsos de radiación fluorescente que se desplazan en dirección contraria a través de las fibras, como se indica con las flechas en la Figura 7-38a. Sin embargo, estos impulsos regresan al acoplador en estrella a dife-

²⁸ M. A. Arnold, *Anal. Chem.*, **1992**, *64*, 1015A; R. E. Dessy, *Anal. Chem.*, **1989**, *61*, 1079A; W. R. Seitz, *Anal. Chem.*, **1984**, *56*, 16A; S. Borman, *Anal. Chem.*, **1987**, *59*, 1161A; *Ibid.*, **1986**, *58*, 766A.

²⁹ R. L. Steffen y F. E. Lytle, *Anal. Chim. Acta*, **1987**, *200*, 491.



(a)



(b)

Figura 7-38. Instrumento para excitar y separar señales de fluorescencia fundamentado en el tiempo que tardan éstas en llegar al detector: (a) disposición experimental; (b) señal de salida del instrumento. (Reproducido con la autorización de R. L. Steffen y F. E. Lytle, *Anal. Chim. Acta*, **1987**, 200, 491.)

rentes tiempos. La radiación de la muestra 1 llega primero al acoplador en estrella y se divide por igual entre los seis puertos. La emisión fluorescente de los puertos 5 y 6 pasa a un monocromador, y desde allí a un sistema de detección de resolución temporal de un nanosegundo. A un tiempo ulterior, determinado por la diferencia de longitud entre las fibras 1 y 2 y por la velocidad de la luz, la radiación de la muestra 2 llega al acoplador en estrella, y una vez más, la radiación fluorescente de las fibras 5 y 6 pasa al sistema de detección. Este proceso se repite con cada fibra en la muestra.

En la Figura 7-38b se muestra una representación gráfica de la señal de salida de un sencillo sistema de detección de recuento de fotones resuelto en el tiempo para un experimento similar al de la Figura 7-38a. El sistema se diferencia del mostrado en la figura en que se utiliza un acoplador en estrella de 8×8 y se analizaron 8 muestras. Los datos se representan como la intensidad fluorescente en función del tiempo de llegada de los fotones al detector. Obsérvese que hay nueve picos, el primero de los cuales (pico 0) corresponde al impulso del láser de excitación anteriormente mencionado. El

pico 1 corresponde a la disolución de referencia utilizada en lugar de una muestra en la posición 1 para corregir la intensidad de los otros picos de fluctuaciones en la potencia de los impulsos del láser. Los picos 2 a 8 corresponden a la emisión fluorescente de las siete muestras. El área de los picos es proporcional a la concentración del analito, 2-(1-naftil)-5-feniloxazol, en las muestras. Las curvas de calibrado para este esquema de detección fueron lineales en tres órdenes de magnitud, y los límites de detección para el analito fueron del orden de milimolar o inferior.

En los experimentos iniciales, se utilizaban fibras ópticas de 41 m a 142 m de longitud. Hay que tener en cuenta que por cada 10 m de fibra recorrida, el impulso del láser se retrasaba unos 50 ns o $0,05 \mu\text{s}$; los circuitos electrónicos modernos pueden discriminar fácilmente entre las señales de esta escala de tiempo. Se hicieron ensayos con distintas configuraciones de acopladores en estrella para determinar la fiabilidad del esquema de detección. En uno de los casos, se utilizó un acoplador 4×4 que permitía controlar la fluorescencia de cuatro muestras. Se realizaron medidas casi simultáneas en diez muestras combinando un acoplador 3×3 con uno 8×8 .

7H. TIPOS DE INSTRUMENTOS ÓPTICOS

En este apartado se define la terminología que se usará para describir los diversos tipos de instrumentos ópticos. Se debe resaltar que la nomenclatura aquí propuesta no responde a un convenio ni es empleada por todos los científicos; es sencillamente una nomenclatura habitual y la utilizada en todo el texto.

Un *espectroscopio* es un instrumento óptico utilizado para la identificación visual de líneas de emisión atómicas. Consta de un monocromador, como los que se muestran en la Figura 7-16, en el que la rendija de salida se reemplaza por un ocular que se puede mover a lo largo del plano focal. La longitud de onda de la línea de emisión se puede determinar a partir del ángulo formado entre el haz incidente y el haz dispersado, cuando la línea se centra en el ocular.

Se usa el término *colorímetro* para designar a un instrumento para medidas de absorción, en el que el ojo humano es el detector utilizando uno o

más patrones de comparación del color. Un *fotómetro* consta de una fuente, un filtro y un detector fotoeléctrico, además de un procesador de señales y un sistema de lectura. Debería tenerse en cuenta que algunos científicos y fabricantes de instrumentos se refieren a los fotómetros como colorímetros o colorímetros fotoeléctricos. Existen en el comercio fotómetros de filtros para medidas de absorción en la región ultravioleta, visible e infrarroja, así como para las medidas de emisión y fluorescencia en las dos primeras regiones. Los fotómetros diseñados para medidas de fluorescencia se denominan también *fluorómetros*.

Un *espectrógrafo* es de construcción similar a los dos monocromadores de la Figura 7-16, excepto que se reemplaza la disposición de la rendija por una gran abertura que aloja al detector o transductor, que está continuamente expuesto al espectro completo de la radiación dispersada. Antiguamente, el detector era una película o placa fotográfica. Hoy en día, sin embargo, se utilizan frecuentemente diodos en serie o dispositivos de transferencia de carga como detectores en los espectrógrafos.

Un *espectrómetro* es un instrumento que proporciona información sobre la intensidad de la radiación en función de la longitud de onda o de la frecuencia. Los elementos dispersantes en algunos espectrómetros son multicanal, es decir, se pueden observar simultáneamente dos o más frecuencias. Dichos instrumentos se denominan a veces *poli-cromadores*. Un *espectrofotómetro* es un espectrómetro equipado con una o más rendijas de salida y detectores fotoeléctricos que permiten la determinación de la relación entre la potencia de dos haces en función de la longitud de onda como en la espectroscopia de absorción. Un espectrofotómetro para análisis por fluorescencia se denomina, a veces, *espectrofluorómetro*.

Todos los instrumentos mencionados en este apartado utilizan filtros o monocromadores para aislar una región del espectro para la medida. Por el contrario, un instrumento *multiplex* obtiene información espectral sin dispersar o filtrar primero la radiación para proporcionar las longitudes de onda de interés. El término *multiplex* proviene de la teoría de la comunicación, donde se usa para describir sistemas en los que muchos conjuntos de información se transportan de forma simultánea a través de un monocal. Los instrumentos analíticos *multiplex* son dispositivos monocal en los que todos los componentes de la respuesta analítica se recogen *simultáneamente*. Para determinar la

magnitud de cada uno de estos componentes, se necesita modular la señal analítica de forma que permita una subsiguiente descodificación de la respuesta en sus componentes.

La mayoría de los instrumentos analíticos multiplex dependen de la *transformada de Fourier* (FT) para descodificar la señal y, por tanto, se denominan con frecuencia espectrómetros de transformada de Fourier. Dichos instrumentos no se limitan sólo a la espectroscopia óptica. En realidad, se han descrito dispositivos de transformada de Fourier para espectrometría de resonancia magnética nuclear, espectrometría de masas y espectroscopia de microondas. Varios de estos instrumentos se describirán con cierto detalle en los próximos capítulos. El siguiente apartado describe los principios en los que se basan los espectrómetros ópticos de transformada de Fourier.

7I. PRINCIPIOS DE LAS MEDIDAS ÓPTICAS DE TRANSFORMADA DE FOURIER

Los primeros que desarrollaron la espectroscopia de transformada de Fourier fueron los astrónomos a principios de los años cincuenta, para estudiar los espectros infrarrojos de las estrellas lejanas; sólo se podían aislar las señales muy débiles de estas fuentes del ruido ambiental mediante la técnica de Fourier. Alrededor de una década más tarde, se publicaron las primeras aplicaciones químicas de la espectroscopia de transformada de Fourier para la región de baja energía del infrarrojo lejano; a finales de los años sesenta, se comercializaron instrumentos para estudios de química en las regiones del infrarrojo lejano (10 a 400 cm^{-1}) y del infrarrojo ordinario. También se pueden hallar en la bibliografía descripciones de instrumentos de transformada de Fourier para las regiones espectrales del ultravioleta y del visible, pero su incidencia ha sido menor³⁰.

³⁰ Para un estudio más completo de la espectroscopia óptica de transformada de Fourier, consúltese las siguientes referencias: A. G. Marshall y F. R. Verdun, *Fourier Transforms in NMR, Optical, and Mass Spectrometry*. New York: Elsevier, 1990. A. G. Marshall, *Fourier, Hadamard, y Hilbert Transforms in Chemistry*. New York: Plenum Press, 1982; *Transforms Techniques in Chemistry*, P. R. Griffiths, Ed. New York: Plenum Press, 1978; Para una breve revisión, véase P. R. Griffiths, *Science*, **1983**, 222, 297; W. D. Perkins, *J. Chem. Educ.*, **1986**, 63, A5, A296; L. Glasser, *J. Chem. Educ.*, **1987**, 64, A228, A260, A306.

7I-1. Ventajas inherentes de la espectrometría de transformada de Fourier

La utilización de instrumentos de transformada de Fourier presenta varias ventajas importantes. La primera es el *rendimiento* o *ventaja Jaquinot*, que se obtiene porque estos instrumentos tienen pocos elementos ópticos y carecen de rendijas que atenúen la radiación. Por tanto, la potencia de la radiación que alcanza el detector es mucho mayor que en los instrumentos dispersivos y se observa una relación señal/ruido muy superior.

La segunda ventaja de los instrumentos de transformada de Fourier es su elevadísimo poder de resolución y reproducibilidad en la longitud de onda que posibilita el análisis de espectros complejos en los que el número total de líneas y el solapamiento espectral dificultan la determinación de las características espectrales individuales. La Figura 7-39, que representa un fragmento del espectro de emisión de un acero, ilustra esta ventaja. El espectro, que en la Figura 7-39 abarca sólo de $299,85$ a $300,75\text{ nm}$, contiene 13 líneas bien separadas de tres elementos. La resolución de la longitud de onda ($\Delta\lambda/\lambda$) para el par de líneas más cercanas es de 6 ppm aproximadamente.

La tercera ventaja surge porque todas las radiaciones de la fuente llegan al detector a la vez. Esta característica permite obtener un espectro completo en un segundo o menos. Se examinarán las consecuencias de esta última ventaja con más detalle.

Para los fines de este estudio, es conveniente pensar que un espectro obtenido experimentalmente está compuesto de m medidas individuales de transmitancia a intervalos de frecuencia o longitud de onda igualmente espaciados denominados *elementos de resolución*. La calidad del espectro—esto es, la cantidad de detalles espectrales—aumenta con el número de elementos de resolución o a medida que los intervalos de frecuencia entre medidas disminuyen³¹. Así, para aumentar la calidad espectral, m debe ser más grande; obviamente, al aumentar el número de elementos de resolución, debe aumentar también el tiempo necesario para obtener un espectro con un instrumento de barrido.

³¹ Obviamente, no se realizan medidas puntuales individuales con un espectrofotómetro con registro; sin embargo, la idea de un elemento de resolución es útil, así como las ideas surgidas de ello aplicadas a dichos instrumentos.

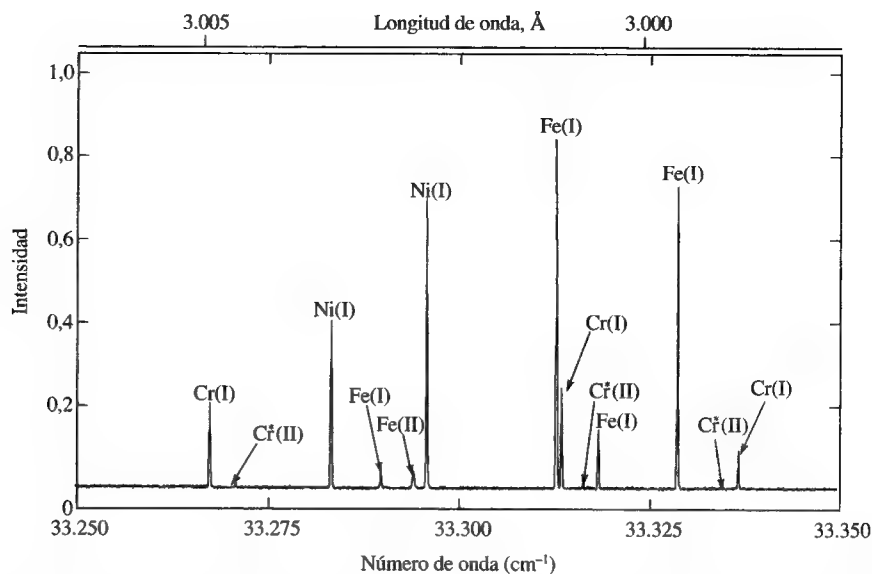


Figura 7-39. Espectro de emisión del hierro que ilustra el elevado poder de resolución de un espectrómetro de emisión de transformada de Fourier. (Reproducido con la autorización de A. P. Thorne, Anal. Chem., 1991, 63, 63A. Copyright 1991 por la American Chemical Society.)

Considérese, por ejemplo, la obtención de un espectro de infrarrojo desde 500 a 5.000 cm^{-1} . Si se eligieran elementos de resolución de 3 cm^{-1} , m sería 1.500; si para registrar la transmitancia de cada elemento de resolución se necesitaran 0,5 s, serían necesarios 750 s o 12,5 min para obtener el espectro. Reduciendo la anchura del elemento de resolución a 1,5 cm^{-1} , cabría esperar obtener detalles espectrales significativamente superiores; pero también se duplicaría el número de elementos de resolución, así como el tiempo requerido para la medida.

En la mayoría de los instrumentos ópticos, y en particular aquellos diseñados para la región infrarroja, la disminución de la anchura del elemento de resolución tiene el efecto contraproducente de disminuir la relación señal/ruido, debido a que se deben usar rendijas más estrechas, las cuales dan lugar a señales de la fuente más débiles que llegan al detector. Sin embargo, en los detectores de infrarrojo, la reducción de señal no va acompañada de la correspondiente disminución del ruido en el detector. Por tanto, se degrada la relación señal/ruido.

En la página 113, se indicó que el promediado de la señal va acompañado de notables mejoras en las relaciones señal/ruido. En este caso, ya se demostró (Ecuación 5-11) que la relación se-

ñal/ruido S/R para el promedio de n medidas viene dado por

$$\frac{S}{N} = \sqrt{n} \frac{S_x}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (S_x - S_i)^2}} = \frac{S_x}{N_x} \sqrt{n} \quad (7-20)$$

donde S_x y N_x son la señal y el ruido promediados. Desafortunadamente, la aplicación del promediado de la señal a la espectroscopia convencional supone mucho tiempo. Así, en el ejemplo considerado anteriormente, para obtener un espectro de 1.500 elementos de resolución se emplearon 750 s. Para mejorar la relación señal/ruido por un factor de 2, se necesitaría promediar cuatro espectros, lo que supondría entonces 4×750 s o 50 min.

La espectroscopia de transformada de Fourier se diferencia de la espectroscopia convencional en que todos los elementos de resolución se miden *simultáneamente* para un espectro, reduciéndose así, en gran medida, el tiempo necesario para obtener un espectro para cualquier relación señal/ruido dada. Un espectro completo de 1.500 elementos de resolución se puede registrar en un tiempo similar al que se precisa para observar un solo elemento por espectroscopia convencional (0,5 s en el ejem-

plo anterior). Esta disminución tan grande del tiempo de observación se usa, muchas veces, para aumentar notablemente la relación señal/ruido de las medidas de transformada de Fourier. Por ejemplo, se podrían registrar y promediar 1.500 espectros de transformada de Fourier durante los 750 s necesarios para obtener el espectro mediante barrido. Según la Ecuación 7-20, el aumento de la relación señal/ruido sería $\sqrt{1.500}$ o alrededor de 39. P. Fellgett observó esta ventaja inherente de la espectroscopia de transformada de Fourier en 1958 y se la conoce como *ventaja Fellgett* o *multiplex*. Es importante resaltar, por diversas razones, que el aumento teórico $\sqrt{n}$ de S/R rara vez se consigue por completo. No obstante, con la técnica de transformada de Fourier se suelen observar aumentos importantes en la relación señal/ruido.

La ventaja multiplex es lo suficientemente importante como para que casi todos los espectrómetros de infrarrojo sean del tipo transformada de Fourier. Sin embargo, estos instrumentos son mucho menos usuales en las regiones ultravioleta, visible e infrarrojo cercano, porque las limitaciones de la relación señal/ruido para medidas espectrales con estos tipos de radiación raramente se encuentran en el ruido del detector, sino en el ruido de disparo y de fluctuación asociados con la fuente. A diferencia del ruido del detector, los valores del ruido de disparo y de fluctuación aumentan con la potencia de la señal. Además, el ruido total de todos los elementos de resolución en una medida de transformada de Fourier tiende a promediarse y a extenderse uniformemente por todo el espectro transformado. De este modo, la relación señal/ruido para los picos intensos en presencia de picos débiles se mejora promediando, pero se degrada para los picos más débiles. Para el ruido de fluctuación, como el encontrado en la radiación de fondo para muchas fuentes espectrales, se observa la degradación de S/R para todos los picos. Este efecto se denomina, algunas veces, *desventaja multiplex* y es la responsable, en gran medida, de que la transformada de Fourier no se haya utilizado con más frecuencia en la espectroscopia ultravioleta/visible³².

7I-2. Espectroscopia de dominio del tiempo

La espectroscopia convencional se puede denominar espectroscopia de *dominio de la frecuencia*, en la que los datos de la potencia radiante se registran en función de la frecuencia o de la longitud de onda, que es inversamente proporcional. En contraposición, la espectroscopia en el *dominio del tiempo*, que se puede conseguir por medio de la transformada de Fourier, relaciona las variaciones de la potencia radiante con el *tiempo*. La Figura 7-40 ilustra la diferencia.

Las representaciones gráficas de las Figuras 7-40c y 7-40d representan los espectros convencionales de dos fuentes monocromáticas con frecuencias de ν_1 y ν_2 Hz. La curva de la Figura 7-40e representa el espectro de una fuente que posee ambas frecuencias. En cada caso, se representa alguna medida de la potencia radiante, $P(\nu)$, respecto a la frecuencia en Hertzios. El símbolo entre paréntesis pone énfasis en la dependencia de la potencia respecto a la frecuencia; la potencia en el dominio del tiempo se indicará como $P(t)$.

Las curvas de la Figura 7-40a muestra los espectros del dominio del tiempo para cada una de las fuentes monocromáticas. Las dos se han representado gráficamente juntas para hacer más patente la pequeña diferencia de frecuencias. En este caso, la potencia instantánea $P(t)$ se representa en función del tiempo. La curva de la Figura 7-40b es el espectro en el dominio del tiempo de la fuente que posee las dos frecuencias. Tal como indica la flecha horizontal, la gráfica manifiesta una periodicidad o *pulsación* a medida que las dos ondas están en fase o no lo están.

Un examen de la Figura 7-41 revela que, para una fuente que contenga varias longitudes de onda, la señal del dominio del tiempo es bastante más compleja que los mostrados en la Figura 7-40. Debido al gran número de longitudes de onda que están implicadas, no se completa un ciclo completo en el período de tiempo mostrado. Para confirmarlo, se puede observar un modelo de pulsaciones cuando ciertas longitudes de onda están o no en fase. En general, la potencia radiante de la señal disminuye con el tiempo, como consecuencia de que varias longitudes de onda muy próximas entre sí están cada vez más desfasadas.

Es importante apreciar que una señal en el dominio del tiempo contiene la misma información que un espectro en el dominio de la frecuencia y,

³² Para una descripción más completa de esta *desventaja multiplex* en la espectroscopia atómica, véase A. P. Thorne, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 62A-63A; A. G. Marshall y F. R. Verdun, *Fourier Transforms in NMR, Optical and Mass Spectrometry*, Capítulo 5. New York: Elsevier, 1990.

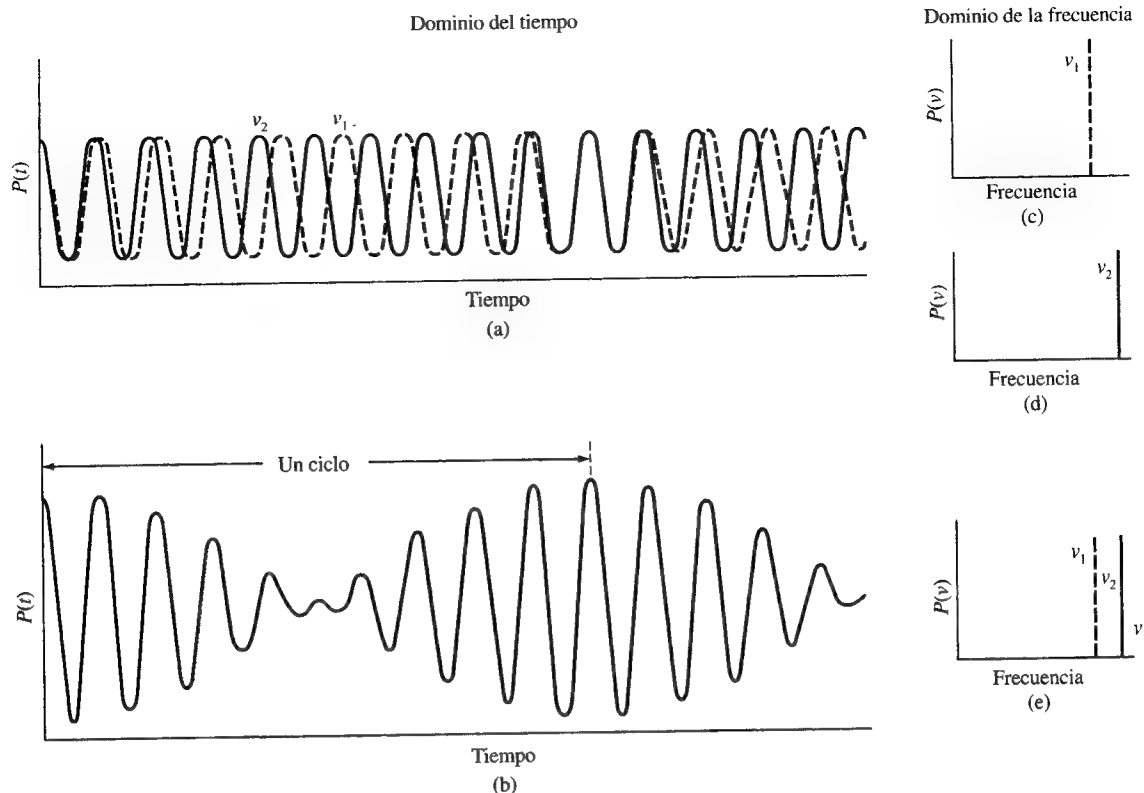


Figura 7-40. Ilustraciones de las gráficas de (1) en el dominio del tiempo (a) y (b) y (2) en el dominio de la frecuencia (c), (d) y (e).

de hecho, uno se puede convertir en otro por medio de ciertas operaciones matemáticas. Así, la Figura 7-40b se dedujo de la Figura 7-40e mediante la ecuación

$$P(t) = k \cos(2\pi\nu_1 t) + k \cos(2\pi\nu_2 t) \quad (7-21)$$

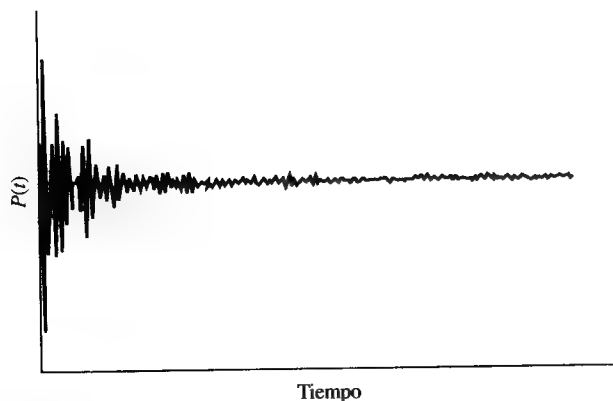


Figura 7-41. Señal en el dominio del tiempo de una fuente constituida por varias longitudes de onda.

donde k es una constante y t el tiempo. La diferencia de frecuencia entre las dos líneas es aproximadamente un 10 por 100 de ν_2 .

En cuanto intervienen unas cuantas líneas, la interconversión de las señales en el dominio del tiempo y en el de la frecuencia llega a ser sumamente complejo y matemáticamente tedioso; esta operación sólo es práctica, si se realiza con un ordenador de elevada velocidad.

7I-3. Obtención de espectros en el dominio del tiempo con un interferómetro de Michelson

Las señales en el dominio del tiempo, como las de las Figuras 7-40 y 7-41, no se pueden lograr experimentalmente con radiaciones del intervalo de frecuencias asociado a la espectroscopia óptica (10^{12} a 10^{15} Hz), dado que no existen detectores que respondan a las variaciones de potencia radiante a estas enormes frecuencias. Así pues, un detector típico

co origina una señal que corresponde a la potencia promedio de una señal de alta frecuencia y no a su variación periódica. Por tanto, para obtener señales en el dominio del tiempo hace falta un método que convierta (o *module*) una señal de alta frecuencia en una de frecuencia medible sin distorsionar las relaciones de tiempo transportadas en la señal; esto es, las frecuencias de la señal modulada deben ser directamente proporcionales a las de la señal original. Se han empleado diferentes procedimientos de modulación de las señales para las diversas regiones de longitud de onda del espectro. El *interferómetro de Michelson* se utiliza mucho para modular la radiación de la región óptica.

El dispositivo utilizado para modular la radiación óptica es un interferómetro de diseño similar al primero descrito por Michelson a finales del siglo XIX. El interferómetro de Michelson es un dispositivo que divide un haz de radiación en dos haces de similar potencia radiante y posteriormente los recombina de tal forma que las variaciones de intensidad del haz recombinado se pueden medir en función de las diferencias de longitud de los caminos de los dos haces. La Figura 7-42 representa un esquema de dicho interferómetro, igual al que se usa para la espectroscopia óptica de transformada de Fourier.

Como se muestra en la Figura 7-42, un haz de radiación de una fuente es colimado e incide en un divisor de haz, que transmite aproximadamente la

mitad de la radiación y refleja la otra mitad. Los haces gemelos resultantes se reflejan en espejos, uno de los cuales es fijo y el otro móvil. A continuación, los haces se vuelven a encontrar en el divisor de haz, con una mitad de cada uno dirigiéndose hacia la muestra y el detector y las otras dos mitades regresando hacia la fuente. Con fines analíticos, sólo se emplean las dos mitades que atraviesan la muestra hacia el detector, aunque las otras dos mitades contienen la misma información sobre la fuente.

El movimiento horizontal del espejo móvil hace fluctuar de manera predecible la potencia de la radiación que llega al detector. Cuando los dos espejos están equidistantes del divisor (posición 0 en la Fig. 7-42), las dos partes del haz recombinado están precisamente en fase y la potencia radiante es máxima. Para una fuente monocromática, el movimiento en cualquier dirección del espejo móvil en una distancia exactamente igual a un cuarto de longitud de onda (posición B o C en la figura) cambia el camino óptico del correspondiente haz reflejado en una mitad de longitud de onda (un cuarto de longitud de onda en cada dirección). En estas circunstancias, la interferencia destructiva reduce a cero la potencia radiante de los haces recombinados. Un movimiento posterior hasta A o D, pone en fase de nuevo las dos mitades, de manera que se vuelve a producir una interferencia constructiva.

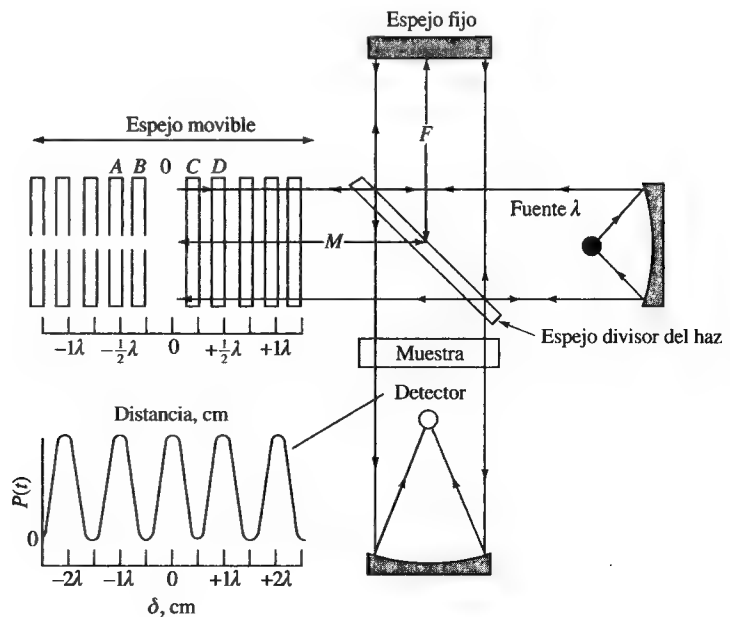


Figura 7-42. Esquema de un interferómetro de Michelson iluminado por una fuente monocromática.

La diferencia de los caminos ópticos de los dos haces, $2(M - F)$ en la figura, se denomina *retardo* δ . Una representación gráfica de la potencia radiante de salida del detector frente a δ se denomina *interferograma*; para la radiación monocromática, el interferograma toma la forma de una curva coseno, como la que se muestra en la parte inferior izquierda de la Figura 7-42 (coseno más que seno, porque la potencia radiante siempre es un máximo cuando δ es cero y los dos caminos son idénticos).

La radiación que llega al detector después de atrevesar un interferómetro de Michelson suele ser de frecuencia mucho menor que la de la fuente. La relación entre las dos frecuencias se deduce, si se tiene en cuenta la representación gráfica de $P(t)$ frente a δ de la Figura 7-42. Cuando el espejo se desplaza una distancia equivalente a la mitad de la longitud de onda ($\lambda/2$), se produce un ciclo de la señal. Si el espejo se mueve a una velocidad constante v_M , y se define τ como el tiempo necesario para que el espejo se mueva $\lambda/2$ cm, se puede escribir

$$v_M \tau = \frac{\lambda}{2} \quad (7-22)$$

La frecuencia f de la señal en el detector es simplemente la inversa de τ , o

$$f = \frac{1}{\tau} = \frac{v_M}{\lambda/2} = \frac{2v_M}{\lambda} \quad (7-23)$$

Se puede relacionar también esta frecuencia con el número de onda $\bar{\nu}$ de la radiación. Así,

$$f = 2v_M \bar{\nu} \quad (7-24)$$

La relación entre la *frecuencia óptica* de la radiación y la frecuencia del interferograma se obtiene sustituyendo $\lambda = c/\nu$ en la Ecuación 7-23. Por tanto,

$$f = \frac{2v_M}{c} \nu \quad (7-25)$$

donde ν es la frecuencia de la radiación y c la velocidad de la luz (3×10^{10} cm/s). Cuando v_M es constante, es evidente que la *frecuencia del interferograma* f es directamente proporcional a la *frecuencia óptica* ν . Además, la constante de proporcionalidad será generalmente un número muy pe-

queño. Por ejemplo, si el espejo se mueve a una velocidad de 1,5 cm/s,

$$\frac{2v_M}{c} = \frac{2 \times 1,5 \text{ cm/s}}{3 \times 10^{10} \text{ cm/s}} = 10^{-10}$$

y

$$f = 10^{-10} \nu$$

Como se muestra en el ejemplo siguiente, la frecuencia de la radiación visible e infrarroja se modula fácilmente a un intervalo de audiofrecuencia por medio de un interferómetro de Michelson.

EJEMPLO 7-3

Calcular el intervalo de frecuencias de una señal modulada por un interferómetro de Michelson con una velocidad del espejo de 0,20 cm/s, para una radiación visible de 700 nm y una infrarroja de 16 μm ($4,3 \times 10^{14}$ a $1,9 \times 10^{13}$ Hz).

Utilizando la Ecuación 7-23, se tiene

$$f_1 = \frac{2 \times 0,20 \text{ cm/s}}{700 \text{ nm} \times 10^{-7} \text{ cm/nm}} = 5.700 \text{ Hz}$$

$$f_2 = \frac{2 \times 0,20 \text{ cm/s}}{16 \mu\text{m} \times 10^{-4} \text{ cm}/\mu\text{m}} = 250 \text{ Hz}$$

Ciertos tipos de detectores del visible y del infrarrojo son capaces de seguir las fluctuaciones en la potencia radiante de la señal que caen dentro del intervalo de las audiofrecuencias. Así, es posible registrar una señal modulada en el dominio del tiempo que refleje con exactitud el aspecto de la señal de elevada frecuencia en el dominio del tiempo de una fuente visible o infrarroja. La Figura 7-43 muestra, a la izquierda, tres ejemplos de dichos interferogramas en el dominio del tiempo y, a la derecha, sus espectros en el dominio de la frecuencia.

Transformación de Fourier de los interferogramas

La onda coseno del interferograma de la Figura 7-43a (y también de la Fig. 7-42) puede describirse, en teoría, por la ecuación

$$P(\delta) = \frac{1}{2} P(\bar{\nu}) \cos 2\pi f t \quad (7-26)$$

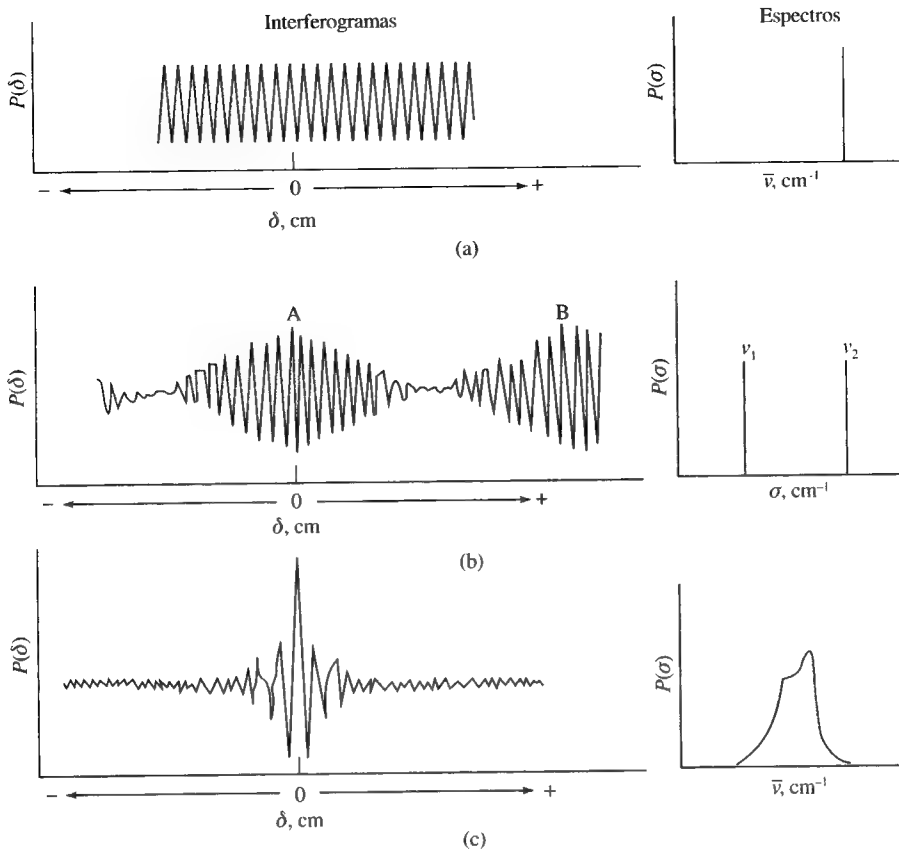


Figura 7-43. Comparación entre interferogramas y espectros ópticos.

donde $P(\bar{\nu})$ es la potencia radiante del haz que incide en el interferómetro y $P(\delta)$ es la amplitud o potencia de la señal del interferograma. Los símbolos entre paréntesis ponen de manifiesto que una potencia está en el dominio de la frecuencia y la otra en el dominio del tiempo. En la práctica, la anterior ecuación se modifica para tener en cuenta que el interferómetro, por lo general, no dividirá la fuente exactamente por la mitad y que la respuesta del detector y el comportamiento del amplificador dependen de la frecuencia. Así, es útil la introducción de una nueva variable $B(\bar{\nu})$, que depende de $P(\bar{\nu})$ y que tiene en cuenta también estos factores. Por tanto, se describe la ecuación en la forma

$$P(\delta) = B(\bar{\nu}) \cos 2\pi f t \quad (7-27)$$

La sustitución de la Ecuación 7-24 en la Ecuación 7-26 conduce a

$$P(\delta) = B(\bar{\nu}) \cos 4\pi \nu_M \bar{\nu} t \quad (7-28)$$

Pero la velocidad del espejo se puede expresar en términos de retardo o

$$\nu_M = \frac{\delta}{2t}$$

La sustitución de esta relación en la Ecuación 7-28 da

$$P(\delta) = B(\bar{\nu}) \cos 2\pi \delta \bar{\nu}$$

que expresa la magnitud de la señal del interferograma en función del factor de retardo y del número de onda de la señal óptica de entrada.

Los interferogramas de la Figura 7-43b se pueden describir por medio de dos términos, uno para cada número de onda. Así pues,

$$P(\delta) = B_1(\bar{\nu}) \cos 2\pi \delta \bar{\nu}_1 + B_2(\bar{\nu}) \cos 2\pi \delta \bar{\nu}_2 \quad (7-29)$$

Para una fuente continua, como en la Figura 7-43c, el interferograma se puede representar

como la suma de un número infinito de términos coseno. Esto es,

$$P(\delta) = \int_{-\infty}^{+\infty} B(\bar{\nu}) \cos 2\pi\bar{\nu}\delta d\bar{\nu} \quad (7-30)$$

La transformada de Fourier de esta integral es

$$B(\bar{\nu}) = \int_{-\infty}^{+\infty} P(\delta) \cos 2\pi\bar{\nu}\delta d\delta \quad (7-31)$$

Una transformación completa de Fourier requiere los componentes real (coseno) e imaginario (seno); se ha presentado únicamente la parte coseno, que es suficiente para operar las funciones reales/pares.

La espectroscopia de transformada de Fourier consiste en registrar $P(\delta)$ en función de δ (Ecuación 7-30) y, a continuación, transformar matemáticamente esta relación en una que dé $B(\bar{\nu})$ en función de $\bar{\nu}$ (el espectro de frecuencias), tal como se indica en la Ecuación 7-31.

Las Ecuaciones 7-30 y 7-31 no se pueden utilizar tal como están escritas, ya que suponen que el haz contiene radiación con números de onda desde cero hasta infinito y que el mecanismo de transmisión del espejo es de longitud infinita. Además, las transformaciones de Fourier con un ordenador requieren que la señal de salida del detector esté digitalizada; esto es, la señal de salida se debe muestrear periódicamente y almacenarse en forma digital. Sin embargo, la Ecuación 7-31 requiere que los intervalos de muestreo $d\delta$ sean infinitamente pequeños; o sea, $d\delta \rightarrow 0$. Desde un punto de vista práctico, sólo un intervalo de muestreo de tamaño finito se puede sumar a lo largo de un intervalo finito de retardo de unos pocos centímetros. Estas limitaciones tienen el efecto de limitar la resolución y restringir el intervalo de frecuencias de un instrumento de transformada de Fourier.

Resolución

La resolución de un espectrómetro de transformada de Fourier se puede describir como la diferencia de los números de onda entre dos líneas que se puedan separar con el instrumento. Esto es,

$$\Delta\bar{\nu} = \bar{\nu}_1 - \bar{\nu}_2 \quad (7-32)$$

donde $\bar{\nu}_1$ y $\bar{\nu}_2$ son los números de onda para un par de líneas escasamente resueltas.

Se puede demostrar que para resolver dos líneas, se debe barrer la señal en el dominio del

tiempo lo suficiente como para completar un ciclo o pulsación para las dos líneas; sólo entonces se habrá registrado toda la información contenida en el espectro. Por ejemplo, la resolución de las dos líneas $\bar{\nu}_1$ y $\bar{\nu}_2$ en la Figura 7-43b requeriría registrar el interferograma desde el máximo A con un retardo cero hasta el máximo B, donde las dos ondas están de nuevo en fase. Sin embargo, el máximo en B se produce cuando $\delta\bar{\nu}_2$ supera a $\delta\bar{\nu}_1$ en una unidad en la Ecuación 7-29. Es decir, cuando

$$\delta\bar{\nu}_2 - \delta\bar{\nu}_1 = 1$$

o

$$\bar{\nu}_2 - \bar{\nu}_1 = \frac{1}{\delta}$$

La sustitución en la Ecuación 7-32 revela que la resolución viene dada por

$$\Delta\bar{\nu} = \bar{\nu}_2 - \bar{\nu}_1 = \frac{1}{\delta} \quad (7-33)$$

Esta ecuación significa que la resolución de los números de onda aumentará en proporción inversa a la distancia que recorre el espejo.

EJEMPLO 7-4

¿Qué longitud del mecanismo de transmisión del espejo proporcionará una resolución de $0,1 \text{ cm}^{-1}$? Sustituyendo en la Ecuación 7-33 resulta

$$0,1 = \frac{1}{\delta}$$

$$\delta = 10 \text{ cm}$$

El movimiento del espejo que se necesita es la mitad del retardo, es decir, 5 cm.

Instrumentos

Los detalles acerca de los espectrómetros ópticos modernos de transformada de Fourier se hallan en el Apartado 16C-1. Una parte integrante de estos instrumentos es un ordenador sofisticado, que controla la adquisición y el almacenamiento de los datos, así como realiza el promediado de la señal y las transformaciones de Fourier.

7J. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 7-1. ¿Por qué la anchura de la rendija de un monocromador de prisma se debe variar para proporcionar anchuras de banda efectiva constantes, mientras que con un monocromador de red se puede usar una anchura de rendija casi constante?
- 7-2. ¿Por qué los análisis cuantitativos y cualitativos requieren a menudo diferentes anchuras de rendija del monocromador?
- 7-3. La ley de desplazamiento de Wien expresa que la máxima longitud de onda, en micrómetros, para la radiación de un cuerpo negro viene dada por la siguiente relación

$$\lambda_{\text{máx}} T = 2,90 \times 10^3$$

donde T es la temperatura en kelvin. Calcular la máxima longitud de onda para un cuerpo negro que se ha calentado a (a) 4.000 K, (b) 2.000 K y (c) 1.000 K.

- 7-4. La ley de Stefan expresa que la energía total E_T emitida por un cuerpo negro por unidad de tiempo y por unidad de superficie viene dada por $E_T = \alpha T^4$, donde α tiene un valor de $5,69 \times 10^{-8} \text{ W M}^{-2} \text{ K}^{-4}$. Calcular la energía total de salida en W/m^2 para cada uno de los cuerpos negros descritos en el Problema 7-3.
- 7-5. Las relaciones descritas en los Problemas 7-3 y 7-4 pueden ayudar a resolver lo siguiente.
- (a) Calcular la longitud de onda de máxima emisión de una lámpara de filamento de wolframio que opera habitualmente a una temperatura de 2.870 K y a una temperatura de 3.000 K.
 - (b) Calcular la energía total de salida de la lámpara en W/cm^2 .
- 7-6. Comparar la emisión espontánea con la emisión estimulada.
- 7-7. Comentar la ventaja de un sistema láser de cuatro niveles respecto a uno de tres niveles.
- 7-8. Definir el término *anchura de banda efectiva* de un filtro.
- 7-9. Se fabrica un filtro de interferencia para aislar la banda de absorción del CS_2 a $4,54 \mu\text{m}$.
- (a) ¿Cuál sería el espesor de la capa dieléctrica (índice de refracción 1,34), si se produce una interferencia de primer orden?
 - (b) ¿Qué otras longitudes de onda se transmitirán?
- 7-10. Se construye una cuña de interferencia de 10,0 cm que tiene una dispersión lineal de 400 a 700 nm. Detallar su construcción. Suponer que se utiliza un dieléctrico con un índice de refracción de 1,32.
- 7-11. ¿Por qué es mejor el vidrio que la sílice fundida como material para la construcción de un prisma para un monocromador que se utiliza en la región de 400 a 800 nm?
- 7-12. ¿Cuántas líneas por milímetro se necesitarán en una red para que la línea de primer orden de difracción de $\lambda = 500 \text{ nm}$ se observe a un ángulo de reflexión de 10 grados, si el ángulo de incidencia es de 60 grados?
- 7-13. En una red para el infrarrojo con 72,0 líneas por milímetro y 10,0 mm de área iluminada. Calcular la resolución del primer orden ($\lambda/\Delta\lambda$) de esta red. ¿A qué distancia (en cm^{-1}) deben estar dos líneas centradas en torno a 1.000 cm^{-1} , si se desea que sean resueltas?

- 7-14.** En la red del Problema 7-13, calcular las longitudes de onda de los espectros de primer y segundo orden de difracción para ángulos de reflexión de (a) 20 grados y (b) 0 grados. Suponer que el ángulo de incidencia es de 50 grados.
- 7-15.** Con la ayuda de las Figuras 7-2 y 7-3, sugerir los componentes instrumentales y materiales más adecuados para construir un instrumento con los siguientes fines:
- (a) La investigación de la estructura fina de las bandas de absorción en la región de 450 a 750 nm.
 - (b) Obtención de espectros de absorción en el infrarrojo lejano (20 a 50 μm).
 - (c) Un dispositivo portátil para la determinación del contenido de hierro en aguas naturales por la absorción de la radiación del complejo rojo de $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$.
 - (d) La determinación rutinaria de nitrobenceno en muestras de aire relacionado con su pico de absorción a 11,8 μm .
 - (e) Determinación de las longitudes de onda de las líneas de emisión de llama de elementos metálicos en la región de 200 a 780 nm.
 - (f) Estudios espectroscópicos en la región del ultravioleta de vacío.
 - (g) Estudios espectroscópicos en el infrarrojo cercano.
- 7-16.** ¿Cuál es la velocidad de una lente que tiene un diámetro de 4,2 cm y una distancia focal de 8,2 cm?
- 7-17.** Comparar el poder de captación de luz de la lente descrita en el Problema 7-16 con una que tenga un diámetro de 2,6 cm y una distancia focal de 8,1 cm.
- 7-18.** Un monocromador tiene una distancia focal de 1,6 m y un espejo colimador con un diámetro de 2,0 cm. El sistema dispersivo es una red con 1.250 líneas/mm. Para el primer orden de difracción,
- (a) ¿Cuál es el poder de resolución del monocromador, si un haz colimado ilumina 2,0 cm de la red?
 - (b) ¿Cuál es la dispersión recíproca lineal de primer y segundo orden de este monocromador?
- 7-19.** Se le equipó a un monocromador con una distancia focal de 0,65 m con una red de escalerilla de 2.000 líneas por milímetro.
- (a) Calcular la dispersión recíproca lineal del instrumento para los espectros de primer orden.
 - (b) ¿Cuál es el poder de resolución de primer orden del monocromador, si se iluminaron 3,0 cm de la red?
 - (c) A 560 nm aproximadamente, ¿qué diferencia mínima de longitud de onda puede, en teoría, resolver completamente el instrumento?
- 7-20.** Describir el fundamento para la detección de radiación con un detector de diodos de silicio.
- 7-21.** Diferenciar entre (a) un espectroscopio, (b) un espectrógrafo y (c) un espectrofotómetro.
- 7-22.** Un interferómetro de Michelson posee una velocidad de espejo de 1,25 cm/s. ¿Cuál será la frecuencia del interferograma para (a) una radiación UV de 300 nm, (b) una radiación visible de 700 nm, (c) una radiación infrarroja de 7,5 μm y (d) una radiación infrarroja de 20 μm ?
- 7-23.** ¿Qué longitud del mecanismo de transmisión del espejo de un interferómetro de Michelson se necesita para producir una resolución que sea suficiente para separar
- (a) los picos en el infrarrojo de 20,34 y 20,35 μm ?
 - (b) los picos en el infrarrojo de 2,500 y 2,501 μm ?



Capítulo 8

Introducción a la espectrometría óptica atómica

Hay tres grandes tipos de métodos espectrométricos para identificar los elementos presentes en la materia y determinar sus concentraciones: (1) la espectrometría óptica, (2) la espectrometría de masas y (3) la espectrometría de rayos X. En la espectrometría óptica, los elementos presentes en una muestra se convierten en átomos o iones elementales en estado gaseoso por medio de un proceso denominado **atomización**. De esta manera se mide la absorción ultravioleta/visible, la emisión o la fluorescencia de las especies atómicas en el vapor. En la espectrometría de masas atómica, las muestras también se atomizan, sin embargo, en este caso, los átomos en estado gaseoso se convierten en iones positivos (generalmente con una única carga) y se separan en función de su relación masa-carga. Los datos cuantitativos se obtienen por el recuento de los iones separados. En la espectrometría de rayos X, no se necesita atomizar, ya que, para la mayoría de los elementos, los espectros de rayos X son independientes de cómo se encuentren dichos elementos combinados químicamente en una muestra. Las medidas pueden, por tanto, realizarse en la medida directa del espectro

de fluorescencia, absorción o emisión de la muestra.

En este capítulo, se realiza primero un estudio teórico de los orígenes y propiedades de los espectros ópticos atómicos. Después se citan los diversos métodos empleados para atomizar las muestras para un análisis elemental. Finalmente, se describe con cierto detalle las distintas técnicas empleadas para introducir las muestras en los atomizadores utilizados en la espectrometría óptica de absorción, emisión y fluorescencia, así como en la espectrometría de masas atómica.

El Capítulo 9 se dedica a los métodos de absorción atómica, los más ampliamente utilizados de todas las técnicas espectrométricas atómicas. El Capítulo 10 estudia varios tipos de técnicas de emisión atómica. Tras ellos, el estudio continúa con unos breves capítulos sobre la espectrometría de masas atómica y los métodos de rayos X atómicos.

8A. ESPECTROS ÓPTICOS ATÓMICOS

En este apartado, se consideran brevemente las bases teóricas de la espectrometría óptica atómica y

algunas características importantes de los espectros ópticos.

8A-1. Diagramas de niveles de energía

El diagrama de niveles de energía de los electrones externos de un elemento proporciona un método adecuado para la descripción de los procesos en los que se basan los diversos métodos de espectroscopia atómica. El diagrama del sodio, que se muestra en la Figura 8-1a, es un diagrama característico. Obsérvese que la escala de energía es lineal en unidades de electrón-voltio (eV), asignando el valor cero al orbital 3s. La escala se extiende hasta unos 5,2 eV, la energía necesaria para arrancar el único electrón 3s, y producir así un ion sodio.

Las energías de varios orbitales atómicos se indican en el diagrama mediante líneas horizontales. Obsérvese que los orbitales *p* se desdoblan en dos niveles que difieren ligeramente en energía. Esta diferencia se explica asumiendo que un electrón gira alrededor de su propio eje y que la dirección

de este movimiento puede ser la misma o la opuesta al movimiento orbital. Debido a la rotación de la carga que transporta el electrón, tanto el movimiento de giro (o espín) como el movimiento orbital crean campos magnéticos. Los dos campos interactúan en el sentido de atraerse, si los dos movimientos se dan en direcciones opuestas; cuando los movimientos son paralelos, se origina una fuerza de repulsión. Como consecuencia, la energía del electrón cuyo espín se opone a su movimiento orbital es ligeramente menor que la de aquél en el que sus movimientos son iguales. Con los orbitales *d* y *f* se dan diferencias similares, pero sus magnitudes son generalmente tan pequeñas que resultan indetectables; por ello, en la Figura 8-1a sólo se indica un único nivel para los orbitales *d*.

El desdoblamiento de los orbitales *p*, *d* y *f* de alta energía en dos estados es característico de todas las especies que contienen un *único* electrón externo. De este modo, el diagrama de niveles de energía para el ion magnesio con una sola carga, que se muestra en la Figura 8-1b, tiene casi el mismo aspecto general que el correspondiente al átomo

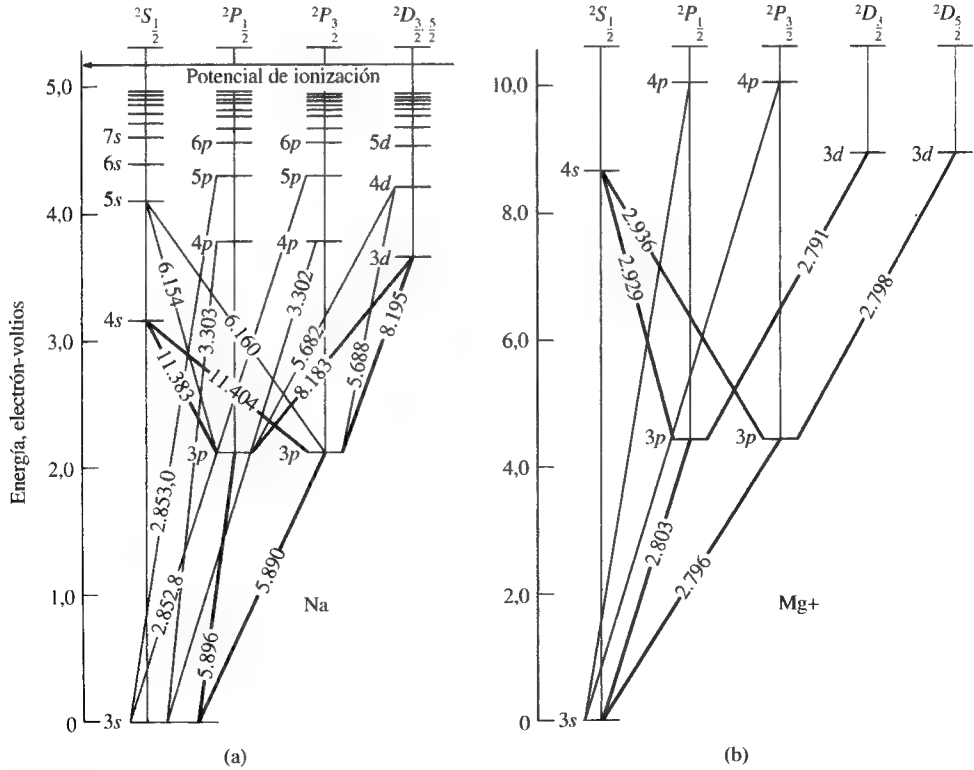


Figura 8-1. Diagramas de niveles de energía para (a) el sodio atómico y (b) el ion magnesio(I). Obsérvese el parecido en el modelo de líneas, pero no en las longitudes de onda reales.

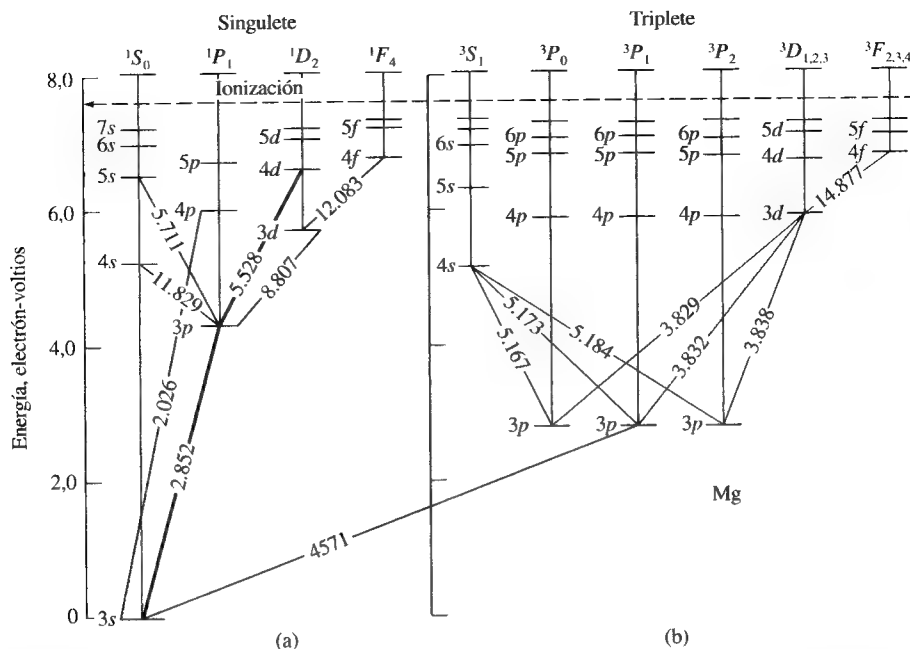


Figura 8-2. Diagrama de niveles de energía para el magnesio atómico. Las intensidades relativas de línea se indican muy aproximadamente por la anchura de las líneas entre estados. Obsérvese que una transición singlete/triplete es mucho menos probable que una singlete/singlete.

mo de sodio sin carga. Así ocurre también con los diagramas del ion aluminio con dos cargas positivas y de los restantes átomos de los metales alcalinos. Sin embargo, es importante subrayar que la diferencia de energía entre los estados $3p$ y $3s$ es aproximadamente dos veces mayor para el ion magnesio que para el átomo de sodio, debido a la mayor carga nuclear del magnesio.

Al comparar la Figura 8-1b con la Figura 8-2 se deduce que los niveles de energía y, por tanto, el espectro de un ion difiere significativamente del átomo del cual procede. En el átomo de magnesio, con dos electrones externos, existen los estados excitados singlete y triplete con diferentes energías.

En el estado singlete excitado, los espines de los dos electrones se oponen y se dice que están apareados; en los estados triplete, los espines están desapareados o en paralelo (Apartado 15A-1). Utilizando flechas para indicar la dirección del espín, el estado fundamental y los dos estados excitados se pueden representar como en la Figura 8-3. Obsérvese que, como en el caso de las moléculas, el estado triplete excitado es de menor energía que el correspondiente estado singlete.

Los orbitales p , d y f del estado triplete se subdividen en tres niveles que difieren ligeramente en su energía. Estas subdivisiones se pueden explicar teniendo en cuenta la interacción entre los campos

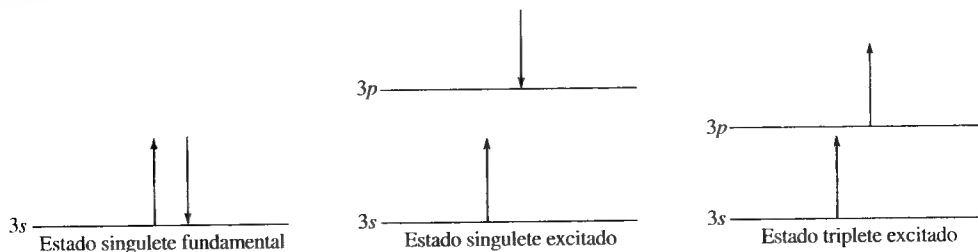


Figura 8-3. Orientaciones del espín en los estados singlete fundamental y excitado y en estado triplete excitado.

asociados con los espines de los dos electrones externos y el campo neto que resulta de los movimientos orbitales de todos los electrones. En el estado singulete, los dos espines están apareados y se anulan sus respectivos efectos magnéticos; por ello, no se observa división de energía. En el estado triplete, sin embargo, los dos espines están desapareados (esto es, sus momentos de espín tienen la misma dirección). El efecto del momento magnético orbital sobre el campo magnético de los espines combinados produce una división del nivel p en un triplete. Este comportamiento es característico de todos los átomos alcalinotérreos, de los iones aluminio y berilio de una sola carga, y así sucesivamente.

A medida que aumenta el número de electrones fuera de las capas más internas, los diagramas de niveles de energía se hacen cada vez más complejos. De esta forma, con tres electrones externos, se produce una división de los niveles de energía en dos y cuatro estados; cuando hay cuatro electrones externos, existen estados singulete, triplete y quintuplete.

Aunque la correlación entre los espectros atómicos y los diagramas de niveles de energía para elementos como el sodio y el magnesio es relativamente sencilla y susceptible de interpretación teórica, no se puede decir lo mismo para elementos más pesados, y particularmente para los metales de transición. Estas especies tienen un gran número de niveles de energía muy poco espaciados; en consecuencia, el número de líneas de absorción o emisión puede ser enorme. Por ejemplo, Harvey¹ ha catalogado el número de líneas observadas en los espectros de arco y chispa de átomos neutros e ionizados con una sola carga para una gran variedad de elementos. Para los metales alcalinos, este número oscila entre 30 para el litio y 645 para el cesio; para los alcalinotérreos, el magnesio tiene 173, el calcio 662 y el bario 472. Por otra parte, son característicos de las series de transición, el cromo, el hierro y el cerio con 2.277, 4.757 y 5.755 líneas respectivamente. En los atomizadores de baja temperatura, como las llamas, se excitan pocas líneas; aun así, los espectros obtenidos con una llama de los metales de transición son considerablemente más complejos que los espectros de las especies con números atómicos bajos.

Obsérvese que las transiciones que producen radiación, mostradas en las Figuras 8-1 y 8-2, se dan únicamente entre ciertos estados de energía.

Por ejemplo, no se producen transiciones de los estados $5s$ o $4s$ al estado $3s$; ni transiciones entre los diversos estados p o los distintos estados d . Estas transiciones se denominan «prohibidas», y existen reglas de *selección* que permiten predecir qué transiciones son más probables y cuáles no. Estas reglas quedan fuera del alcance de este texto.

Espectros de emisión atómica

A temperatura ambiente, esencialmente todos los átomos de una muestra de materia se encuentran en el estado fundamental. Por ejemplo, en estas condiciones el único electrón más externo de un átomo de sodio ocupa el orbital $3s$. La excitación de este electrón a orbitales de mayor energía se puede conseguir por el calor de una llama, un plasma, una chispa o arco eléctrico. El tiempo de vida de un átomo excitado es breve y, sin embargo, su regreso al estado fundamental va acompañado de la emisión de un fotón de radiación. Las líneas verticales de la Figura 8-1a indican algunas de las transiciones electrónicas habituales que siguen a la excitación de los átomos de sodio; también se indica la longitud de onda de la radiación resultante. Las dos líneas a 5.890 y 5.896 Å son las más intensas y las responsables del color amarillo que se observa cuando se introducen sales de sodio en una llama.

La Figura 8-4 muestra un fragmento del espectro de emisión del sodio registrado. En este caso, la excitación se produjo pulverizando una disolución de cloruro de sodio en una llama de oxígeno-hidrógeno. Obsérvese el pico más grande situado más a la derecha, el cual está fuera de escala y corresponde a las transiciones de $3p$ a $3s$ a 5.896 y 5.890 Å, que se indican en la Figura 8-1a. El poder de resolución del monocromador utilizado es insuficiente para separar los picos. Estas dos líneas son *líneas de resonancia*, que implican transiciones entre el estado electrónico excitado y el estado fundamental. Como se muestra en la Figura 8-3, otras líneas de resonancia se producen a 3.302 y 3.303 Å, así como a 2.853,0 y 2.852,8 Å. El pico mucho menor que aparece a unos 5.700 Å en la Figura 8-4 corresponde de hecho a dos picos no resueltos y no resonantes que provienen de las dos transiciones $4d$ a $3p$ que también se indican en el diagrama de niveles de energía.

Espectros de absorción atómica

En un medio gaseoso a elevada temperatura, los átomos de sodio son capaces de *absorber* radiación

¹ C. E. Harvey, *Spectrochemical Procedures*, Capítulo 4. Glendale, CA: Applied Research Laboratories, 1950.

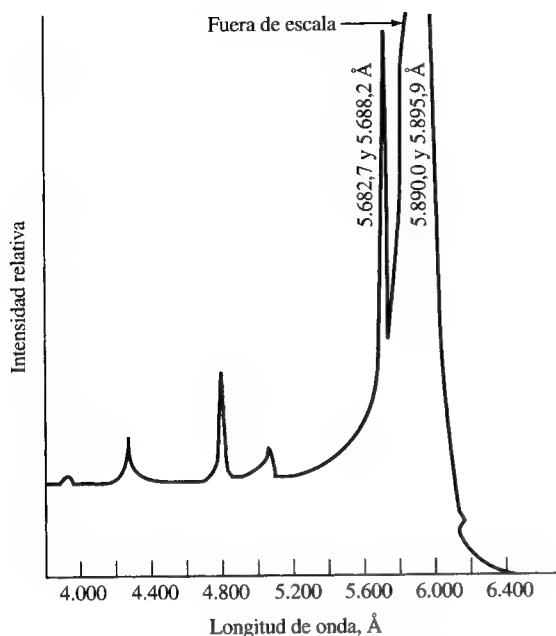


Figura 8-4. Fragmento del espectro de emisión de llama del sodio.

de las longitudes de onda características de las transiciones electrónicas del estado $3s$ a estados excitados más elevados. Por ejemplo, se observan experimentalmente picos agudos de absorción a 5.890, 5.896, 3.302 y 3.303 Å. Si de nuevo se observa la Figura 8-1a, es evidente que cada par adyacente de estos picos corresponde a transiciones del nivel $3s$ a los niveles $3p$ y $4p$ respectivamente. Debe de mencionarse que la absorción no resonante debida a la transición $3p$ a $5s$ es tan débil que no se llega a detectar, ya que el número de átomos de sodio en el estado $3p$ es normalmente pequeño a la temperatura de una llama. Así, un espectro de absorción atómico característico consta principalmente de líneas de resonancia, que son el resultado de transiciones desde el estado fundamental a niveles superiores.

Espectros de fluorescencia atómica

En una llama, los átomos o los iones pueden presentar fluorescencia cuando se irradian con una fuente intensa que contiene las longitudes de onda que son absorbidas por el elemento. El espectro de fluorescencia se mide más adecuadamente a un ángulo de 90 grados con respecto a la trayectoria de la luz. La radiación observada es, por lo general, el resultado de la fluorescencia de resonancia que implica transiciones de los estados excitados volvien-

do al estado fundamental. Por ejemplo, cuando los átomos de magnesio se irradian con una fuente ultravioleta, se absorbe la radiación de 2.852 Å, que corresponde al tránsito de los electrones desde el nivel $3s$ al $3p$ (véase Fig. 8-2); la fluorescencia de resonancia emitida a esta misma longitud de onda se puede utilizar con fines analíticos. Por el contrario, cuando los átomos de sodio absorben radiación de longitud de onda de 3.303 Å, los electrones pasan al estado $4p$ (véase Fig. 8-1a). Tiene lugar una transición no radiante hacia los dos estados $3p$ mucho más rápidamente que la fluorescencia que produce la transición hasta el estado fundamental. Como consecuencia, la fluorescencia que se observa se presenta a 5.890 y 5.896 Å.

La Figura 8-5 ilustra un tercer mecanismo de la fluorescencia atómica. En este caso, parte de los átomos de talio, excitados en una llama, vuelven al estado fundamental en dos etapas, una de las cuales es fluorescente produciendo una línea a 5.350 Å; a continuación se produce rápidamente una desactivación no radiante hacia el estado fundamental. También se observa fluorescencia de resonancia a 3.776 Å.

8A-2. Anchura de las líneas atómicas

En espectroscopia atómica la anchura de las líneas atómicas es de considerable importancia. Por ejemplo, las líneas estrechas son muy convenientes tanto para el trabajo en emisión como en absorción, dado que así se reduce la posibilidad de interferencias debidas al solapamiento de espectros. Además, como se indicará posteriormente, la anchura de las líneas es de gran importancia en el diseño de los instrumentos para la espectroscopia de absorción atómica. Por estos motivos, es importante

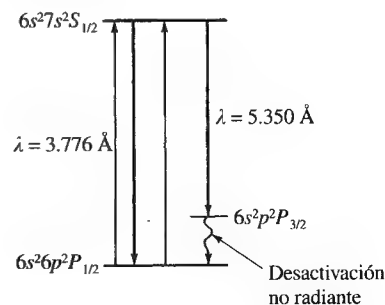


Figura 8-5. Diagrama de niveles de energía del talio, en el que se indica el origen de dos líneas de fluorescencia.

considerar algunas de las variables que influyen en la anchura de las líneas espectrales atómicas.

Como se muestra en la Figura 8-6, las líneas de emisión y de absorción atómica presentan generalmente una distribución de longitudes de onda simétrica alrededor de una longitud de onda media λ_0 , que es la longitud de onda de máxima absorban- cia de la radiación absorbida o la de máxima inten- sidad de la radiación emitida. La energía asociada a λ_0 es exactamente igual a la diferencia de energía entre los dos estados cuánticos responsables de la absorción o emisión.

El examen de un diagrama de niveles de ener- gía, como el que se muestra en la Figura 8-1a, su- giere que una línea atómica contiene sólo una úni- ca longitud de onda λ_0 , es decir, como una línea resultante de una transición electrónica entre dos estados discretos no degenerados, la anchura de la línea será cero. Sin embargo, distintos fenómenos provocan un ensanchamiento de la línea, de tal for- ma que todas las líneas atómicas tienen unas an- churas finitas, tal como se muestra en la Figura 8-6. Obsérvese que la *anchura de línea* o *anchura de línea efectiva* $\Delta\lambda_{1/2}$ de una línea de emisión o ab- sorción atómica se define como la anchura en uni- dades de longitud de onda medida a la mitad de la señal máxima. Se elige este punto, porque la medi- da se puede hacer más exactamente a la mitad de la intensidad del pico que en la base.

El ensanchamiento de la línea se debe a cuatro causas: (1) el efecto de incertidumbre, (2) el efecto Doppler, (3) efectos de presión debidos a colisio- nes entre átomos del mismo tipo y con átomos ex- traños y (4) efectos del campo magnético y eléctri-

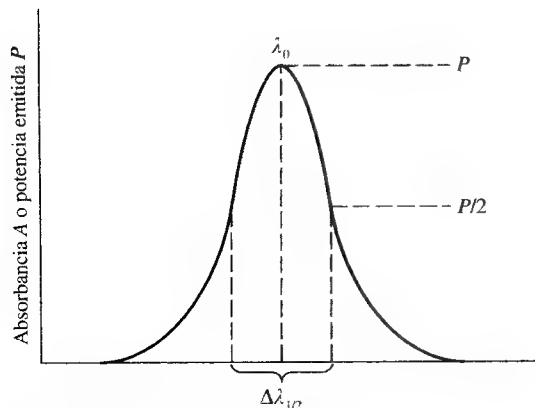


Figura 8-6. Perfil de una línea atómica, en la que se muestra la definición de la anchura de línea efectiva $\Delta\lambda_{1/2}$.

co. Sólo resulta oportuno tratar los tres primeros fenómenos. El efecto del campo magnético se dis- cutirá en el Apartado 9C-1 en relación con el efecto Zeeman.

Ensanchamiento de línea por el efecto de incertidumbre

Las líneas espectrales siempre tienen anchuras fini- tas, porque los tiempos de vida de uno o ambos estados de transición son finitos, lo que conlleva a incertidumbres en los tiempos de transición y a un ensanchamiento de la línea como consecuencia del principio de incertidumbre (véase Apartado 6C-6). Es decir, si los tiempos de vida de los dos estados se aproximarán a infinito, entonces la anchura de una línea atómica resultante de la transición entre los dos estados se aproximaría a cero. Mientras el tiempo de vida de un electrón en estado fundamen- tal es largo, los tiempos de vida en sus estados ex- citados son por lo general cortos, siendo del orden de 10^{-7} a 10^{-8} s habitualmente. El Ejemplo 8-1 ilus- tra cómo se puede estimar la anchura de una línea de emisión atómica a partir del tiempo de vida me- dio y del principio de incertidumbre.

EJEMPLO 8-1

El tiempo de vida medio del estado excitado pro- ducido mediante la irradiación de vapor de mercu- rio con un impulso de radiación de 253,7 nm es de 2×10^{-8} s. Calcular el valor aproximado de la an- chura de la línea de fluorescencia originada de esta forma.

De acuerdo con el principio de incertidumbre (Ecuación 6-25),

$$\Delta\nu \cdot \Delta t > 1$$

Sustituyendo Δt por 2×10^{-8} s se obtiene, tras reor- denar, la incertidumbre $\Delta\nu$ en la frecuencia de la radiación emitida.

$$\Delta\nu = 1/2 \times 10^{-8} = 5 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$$

A fin de estimar la relación entre esta incertidum- bre en la frecuencia y la incertidumbre en unidades de longitud de onda, la Ecuación 6-2 se escribe en la forma

$$\nu = c\lambda^{-1}$$

Derivando con respecto a la frecuencia se obtiene

$$dv = -1c\lambda^{-2}d\lambda$$

Reordenando y tomando Δv como dv y $\Delta\lambda_{1/2}$ como $d\lambda$, se obtiene

$$\begin{aligned} |\Delta\lambda_{1/2}| &= \frac{\lambda^2 \Delta v}{c} = \\ &= \frac{(253,7 \times 10^{-9} \text{ m})^2 \times 5 \times 10^7 \text{ s}^{-1}}{3 \times 10^8 \text{ m/s}} = 1,1 \times 10^{-14} \text{ m} = \\ &= 1,1 \times 10^{-14} \text{ m} \times 10^{10} \text{ Å/m} = 1 \times 10^{-4} \text{ Å} \end{aligned}$$

Las anchuras de línea debidas al ensanchamiento por la incertidumbre se denominan en ocasiones *anchuras naturales de línea* y generalmente son del orden de 10^{-4} Å, como en el Ejemplo 8-1.

Ensanchamiento por efecto Doppler²

La longitud de onda de la radiación emitida o absorbida por un átomo que se mueve rápidamente disminuye si el movimiento es hacia el detector y aumenta si el átomo se aleja del mismo (véase Figura 8-7). Este fenómeno se conoce como el *desplazamiento Doppler* y no sólo se observa en la radiación electromagnética, sino también en las ondas del sonido. Por ejemplo, el desplazamiento Doppler se produce cuando un vehículo lleva la sirena puesta y adelanta a un peatón. A medida que el vehículo se acerca al observador, cada sucesiva vibración sonora se emite a una distancia cada vez más próxima al observador. Así, cada onda de sonido le llega al peatón ligeramente antes que lo que se esperaría si el vehículo estuviera donde antes. El resultado es una frecuencia mayor, o un tono más alto, de la sirena. Cuando el vehículo está a la altura del observador, las ondas van directamente a su oído siguiendo una línea perpendicular a la trayectoria del vehículo, de esta manera no se produce un cambio en la frecuencia. Cuando el vehículo se aleja del peatón, cada onda se emite a una distancia cada vez mayor que la anterior; como resultado, la

frecuencia cada vez es menor, y esto produce un tono menor.

La magnitud del desplazamiento Doppler aumenta con la velocidad a la que las especies absorbentes o emisoras se aproximan o se alejan del detector. El efecto Doppler se utiliza en astronomía para medir la velocidad de retroceso de las galaxias respecto a la Tierra. La relación entre el *desplazamiento Doppler*, o *desplazamiento hacia el rojo*, $\Delta\lambda$ y la velocidad v de una galaxia que se aleja se engloba en la ecuación

$$\frac{\Delta\lambda}{\lambda_0} = \frac{v}{c}$$

donde λ_0 es la longitud de onda de una línea que no se desplaza de un elemento de la muestra que está en reposo respecto al observador, y c es la velocidad de la luz. Durante los años veinte, el famoso astrónomo Edwin Hubble encontró que los *desplazamientos Doppler* de líneas conocidas en los espectros de las galaxias en retroceso eran directamente proporcionales a las distancias a las galaxias medidas por otros medios. La pendiente de la recta de la velocidad de retroceso galáctica frente a la distancia a la Tierra es la *constante de Hubble*, que proporciona una medida de la edad del universo conocido, así como la base de la *teoría del big bang* y otras teorías de su formación y evolución.

El movimiento de los átomos en un medio calórico, como una llama, tiene lugar en todas las direcciones. Los átomos individuales presentan una distribución de velocidades de Maxwell-Boltzmann, en la que la velocidad media de una determinada especie atómica aumenta con la raíz cuadrada de la temperatura absoluta. El máximo desplazamiento Doppler lo presentan aquellos átomos que se mueven a las velocidades más altas y en línea recta acercándose o alejándose del detector. Los átomos que se mueven perpendicularmente al detector no experimentan ningún desplazamiento. Desplazamientos intermedios se producen para los restantes átomos en función de su velocidad y dirección. De esta forma, llega al detector una distribución de longitudes de onda aproximadamente simétrica, con el máximo correspondiendo a un desplazamiento Doppler cero. En las llamas, el efecto Doppler origina líneas cuya anchura es aproximadamente dos órdenes de magnitud mayor que las anchuras naturales de línea.

² Para un tratamiento cuantitativo del ensanchamiento por efecto Doppler y del ensanchamiento por presión, véase J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, págs. 210-212. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1988.

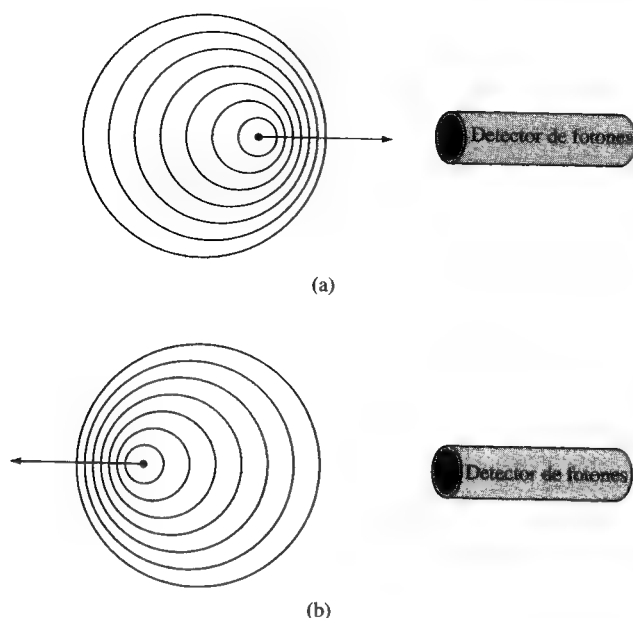


Figura 8-7. Causa del ensanchamiento por efecto Doppler. (a) Un átomo que se mueve hacia la radiación se encuentra con crestas de onda más frecuentemente y, por ello, absorbe una radiación que es de mayor frecuencia. (b) Un átomo que se mueve en el mismo sentido de la radiación se encuentra con crestas de onda menos a menudo y, así, absorbe una radiación que es de menor frecuencia.

Ensanchamiento por presión

El ensanchamiento por presión, o de colisión, se produce por las colisiones de las especies emisoras o absorbentes con otros átomos o iones presentes en el medio calorífico. Estas colisiones provocan pequeños cambios en los niveles de energía del estado fundamental y, por tanto, se origina una dispersión de las longitudes de onda emitidas o absorbidas. En una llama, las colisiones se dan en gran parte entre los átomos del analito y los diversos productos de la combustión del gas combustible, lo que produce un ensanchamiento que es dos o tres órdenes de magnitud mayor que las anchuras naturales de línea. En las lámparas de cátodo hueco y en las de descarga sin electrodos, que se utilizan como fuentes en espectroscopia de absorción atómica, el ensanchamiento se produce fundamentalmente como consecuencia de las colisiones entre los átomos que emiten y otros del mismo tipo. En las lámparas de mercurio y xenón de alta presión, el ensanchamiento por presión es tan grande que se produce una radiación continua en toda la región ultravioleta y visible.

8A-3. Efecto de la temperatura en los espectros atómicos

La temperatura ejerce un gran efecto sobre la relación entre el número de partículas atómicas excita-

das y no excitadas en un atomizador. La magnitud de este efecto se puede deducir de la *ecuación de Boltzmann*, que en general se escribe de esta forma

$$\frac{N_j}{N_0} = \frac{P_j}{P_0} \exp\left(-\frac{E_j}{kT}\right) \quad (8-1)$$

Donde N_j y N_0 son el número de átomos en estado excitado y en estado fundamental respectivamente, k es la constante de Boltzmann ($1,28 \times 10^{-23}$ J/K), T es la temperatura en grados kelvin y E_j es la diferencia de energía, en julios, entre el estado excitado y el estado fundamental. Las magnitudes P_j y P_0 son factores estadísticos que están determinados por el número de estados con igual energía en cada nivel cuántico.

EJEMPLO 8-2

Calcular la relación entre los átomos de sodio en el estado excitado $3p$ y los que están en el estado fundamental a las temperaturas de 2.500 y 2.510 K.

Con objeto de calcular E_j en la Ecuación 8-1, se utiliza una longitud de onda media de $5.893 \text{ \AA}$ para las dos líneas de emisión del sodio que implican transiciones $3p \rightarrow 3s$. Para obtener la energía en julios, se utilizan los factores de conversión que se encuentran en la página 994.

$$\begin{aligned}\text{número de onda} &= \frac{1}{5.893 \text{ Å} \times 10^{-8} \text{ cm/Å}} = \\ &= 1,697 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \\ E_j &= \frac{1,697 \times 10^4}{\text{cm}} \times 1,986 \times 10^{-23} \text{ Jcm} = \\ &= 3,37 \times 10^{-19} \text{ J}\end{aligned}$$

Existen dos estados cuánticos en el nivel $3s$ y seis en el $3p$. Por tanto,

$$\frac{P_j}{P_0} = \frac{6}{2} = 3$$

Sustituyendo en la Ecuación 8-1 se obtiene,

$$\frac{N_j}{N_0} = 3 \exp \left(\frac{-3,37 \times 10^{-19} \text{ J}}{1,38 \times 10^{-23} \text{ JK}^{-1} \times 2.500 \text{ K}} \right)$$

o

$$\frac{N_j}{N_0} = 3 \times 5,725 \times 10^{-5} = 1,72 \times 10^{-4}$$

Reemplazando 2.500 por 2.510 en las ecuaciones anteriores, se obtiene,

$$\frac{N_j}{N_0} = 1,79 \times 10^{-4}$$

El Ejemplo 8-2 demuestra que una fluctuación en la temperatura de sólo 10 K produce un aumento del 4 por 100 en el número de átomos de sodio excitados. Como consecuencia se produciría un aumento en la potencia emitida por ambas líneas. Por este motivo, los métodos analíticos basados en la medida de la emisión requieren un riguroso control de la temperatura de atomización.

Los métodos de absorción y de fluorescencia teóricamente dependen menos de la temperatura, ya que, en ambos casos, las medidas están relacionadas inicialmente con los átomos que *no están excitados*, más que con los átomos que se han excitado térmicamente. En el ejemplo que se ha considerado, sólo alrededor del 0,017 por 100 de los átomos de sodio se encuentran excitados térmicamente a 2.500 K. Los métodos de emisión se basan en esta pequeña fracción del analito. Por el contrario, en las medidas de absorción y fluorescencia, para producir las señales analíticas se emplea el 99,98 por 100 del analito que está presente como

átomos de sodio no excitados. Obsérvese también que mientras un cambio de temperatura de 10 K causa un incremento del 4 por 100 en los átomos excitados, el cambio *relativo* correspondiente en porcentaje de los átomos no excitados es insignificante.

Las fluctuaciones de temperatura, sin embargo, influyen indirectamente y por razones distintas sobre las medidas de absorción y fluorescencia atómicas. Por lo general, un incremento de la temperatura aumenta la eficacia del proceso de atomización y, en consecuencia, el número total de átomos en el vapor. Además, se produce un ensanchamiento de la línea con la consiguiente disminución de la altura del pico, debido a que las partículas atómicas se desplazan a mayor velocidad, lo que aumenta el efecto Doppler. Finalmente, las variaciones de temperatura afectan al grado de ionización del analito y, por tanto, a la concentración de analito no ionizado en la que se basa habitualmente el análisis (véase la página 236). Todos estos efectos hacen necesario también controlar adecuadamente la temperatura de la llama para las medidas cuantitativas de absorción y de fluorescencia.

La gran proporción de átomos no excitados respecto a los excitados en los medios de atomización conduce a otra interesante comparación entre los tres métodos atómicos. Debido a que los métodos de absorción y fluorescencia atómicos se basan en una población mucho mayor de átomos, se podría esperar que ambos procedimientos fueran más sensibles que el procedimiento de emisión. Sin embargo, esta ventaja aparente resulta contrarrestada en el método de absorción, porque la medida de absorbancia se obtiene a partir de una diferencia ($A = \log P_0 - \log P$); cuando P y P_0 son muy parecidas, deben esperarse grandes errores relativos en la diferencia. En consecuencia, los procedimientos de emisión y de absorción tienden a ser complementarios respecto a su sensibilidad, mientras una técnica resulta ventajosa para un grupo de elementos, la otra lo es para un grupo distinto. Tomando como base la población de átomos activa, los métodos de fluorescencia atómica deberían ser, al menos en teoría, los más sensibles de los tres.

8A-4. Espectros de bandas y continuos asociados a los espectros atómicos

Cuando se generan los espectros de líneas atómicos, además de éstos, generalmente se producen

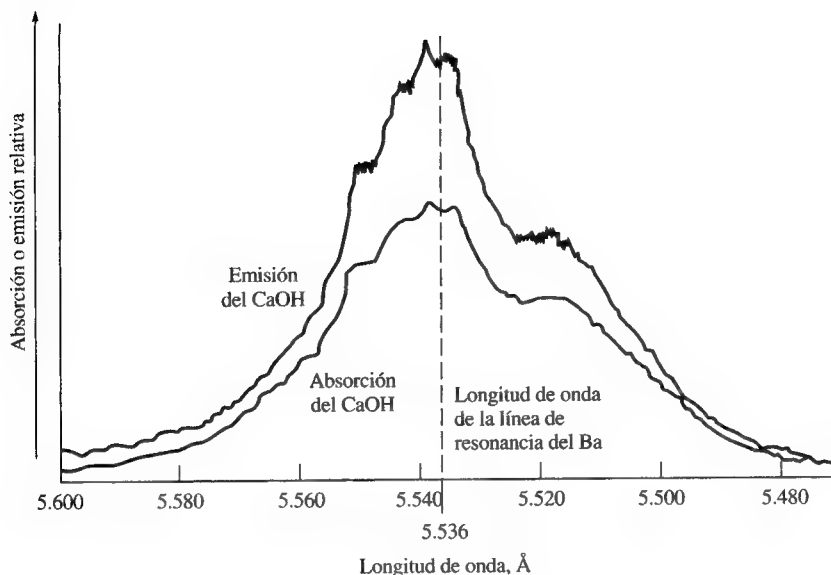


Figura 8-8. Espectros moleculares de emisión y de absorción en llama para el CaOH y Ba. (Adaptado de L. Capacho-Delgado y S. Sprague, *Atomic Absorption Newsletter*, 1965, 4, 363. Cortesía de Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, CT.)

tanto espectros de bandas como radiación continua. Por ejemplo, la Figura 6-15 (pág. 139) muestra la presencia de ambos espectros moleculares (bandas y continuo), el último resultante de la radiación térmica de la materia en forma de partículas calientes en el medio de atomización. Como se explicará posteriormente, los plasmas, arcos y chispas también producen ambos tipos de bandas de radiación.

En la determinación de elementos por espectrometría de absorción y emisión atómica se encuentran frecuentemente espectros de bandas. Por ejemplo, cuando se atomizan disoluciones de calcio iónico en llamas frías, aparecen bandas de absorción y de emisión moleculares del CaOH en la región de 554 nm (véase Fig. 8-8), que pueden utilizarse para la determinación de concentraciones del elemento. Sin embargo, habitualmente, la presencia de radiación continua y de bandas moleculares representa una fuente potencial de interferencias, que deben controlarse por medio de una adecuada elección de la longitud de onda, por la corrección de la señal de fondo o por un cambio en las condiciones de atomización.

8B. MÉTODOS DE ATOMIZACIÓN

Para obtener espectros ópticos atómicos y espectros de masas atómicos, los componentes de la

muestra deben convertirse en átomos o átomos ionizados en estado gaseoso, que pueden determinarse mediante medidas espectrales de emisión, absorción, fluorescencia o masa. Como ya se indicó anteriormente, el proceso por el que la muestra se convierte en un vapor atómico se denomina *atomización*. La precisión y la exactitud de los métodos atómicos dependen de forma crítica de las etapas de la atomización y del método de introducción de la muestra en la zona de atomización. Los tipos más habituales de atomizadores se encuadran en la Tabla 8-1. La descripción detallada de varios de estos dispositivos se encuentra en los Capítulos 9, 10 y 11.

8C. MÉTODOS DE INTRODUCCIÓN DE LA MUESTRA

La *introducción de la muestra* ha sido considerada como «el talón de Aquiles» de la espectroscopia atómica, ya que en muchos casos es la etapa limitante de la exactitud, precisión y límites de detección de las medidas espectrométricas atómicas³. El objetivo del sistema de introducción de la muestra

³ R. F. Browner y A. N. Boorn, *Anal. Chem.*, 1984, 56, 786A, 875A; *Sample Introduction in Atomic Spectroscopy*, J. Sneddon, Ed. New York: Elsevier, 1990.

en la espectrometría atómica es transferir una parte reproducible y representativa de la muestra a uno de los atomizadores citados en la Tabla 8-1 con una elevada eficacia y sin efectos interferentes adversos. La facilidad con la que se alcanza este objetivo depende en gran medida del estado físico y químico del analito y de la matriz de la muestra. Para las muestras sólidas de elementos refractarios, la introducción de la muestra es generalmente el principal problema; mientras que para las muestras gaseosas y en disolución, esta etapa es con frecuencia trivial. Por esta razón, la mayoría de los estudios realizados por espectroscopia atómica se llevan a cabo en disoluciones.

Para las cinco primeras fuentes de atomización citadas en la Tabla 8-1, las muestras se introducen habitualmente en forma de disoluciones (generalmente acuosas) o menos frecuentemente en forma de una suspensión de un polvo finamente dividido en un líquido o *slurry*. En el caso de muestras difíciles de disolver, se han propuesto diversos métodos que permiten introducir la muestra sólida o en forma de polvo finamente dispersado. Generalmente, las técnicas de introducción de la muestra sólida son menos reproducibles y están más sujetas a errores y, por ello, no se utilizan tan ampliamente como aquellas técnicas que introducen la muestra en forma de disoluciones acuosas. La Tabla 8-2 presenta los métodos de introducción de la muestra

TABLA 8-1. Tipos de atomizadores utilizados en espectroscopia atómica

Tipo de atomizador	Temperatura de atomización característica, °C
Llama	1.700-3.150
Vaporización electrotérmica (ETV)	1.200-3.000
Plasma de argón de acoplamiento inductivo (ICP)	4.000-6.000
Plasma de argón de corriente continua (DCP)	4.000-6.000
Plasma de argón inducido por microondas (MIP)	2.000-3.000
Plasma de descarga luminiscente (GD)	No térmico
Arco eléctrico	4.000-5.000
Chispa eléctrica	40.000 (?)

TABLA 8-2. Métodos de introducción de la muestra en espectroscopia atómica

Método	Tipo de muestra
Nebulización neumática	Disolución o suspensión
Nebulización ultrasónica	Disolución
Vaporización electrotérmica	Sólido, líquido, disolución
Generación de hidruros	Disolución de ciertos elementos
Insertión directa	Sólido, polvo
Ablación por láser	Sólido, metal
Ablación por arco o chispa	Sólido conductor
Chisporroteo de descarga luminiscente	Sólido conductor

más habituales que se emplean en la espectroscopia atómica y el tipo de muestras para las que son aplicables cada uno.

8C-1. Introducción de las muestras en disolución⁴

Las disoluciones se introducen generalmente en el atomizador por uno de los tres primeros métodos citados en la Tabla 8-2. Dos de estos métodos incluyen la *nebulización*, en la que la muestra se convierte en una niebla de pequeñas gotitas finamente divididas (*aerosol*) por medio de un chorro de gas comprimido. El flujo de gas conduce a la muestra a la zona en la que tiene lugar la atomización.

Nebulizadores neumáticos

En un análisis por espectrometría atómica, las muestras generalmente se disuelven en un medio acuoso y se introducen en el atomizador por medio de un *nebulizador* que transforma el líquido en una fina niebla o *aerosol*. El tipo más común de nebulizador es el nebulizador neumático de tubo concéntrico, que se muestra en la Figura 8-9a, en el que la

⁴ Para un estudio detallado de los métodos de introducción de líquidos, véase A. G. T. Gustavsson, en *Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry*, 2.^a ed., A. Montaser y D. W. Golightly, Eds., Capítulo 15. New York: VCH Publishers, Inc., 1992.

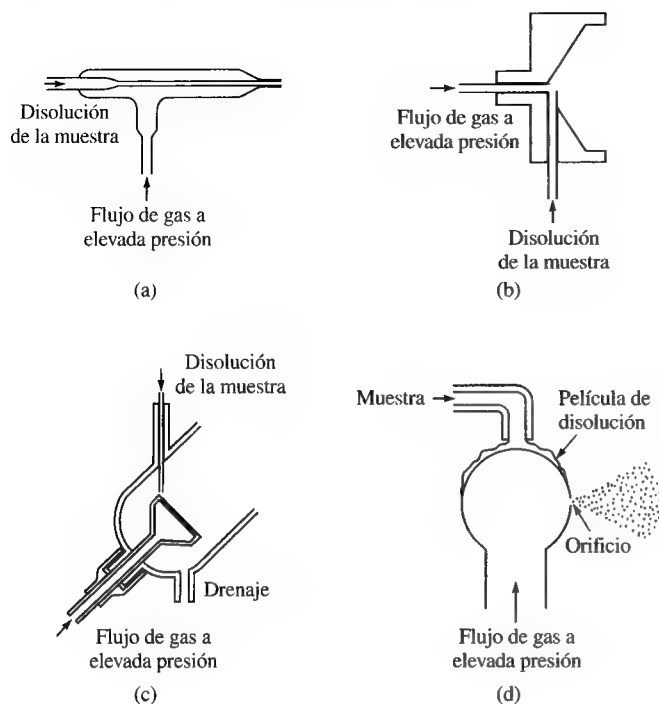


Figura 8-9. Tipos de nebulizadores neumáticos: (a) de tubo concéntrico, (b) de flujo cruzado, (c) de disco fritado, (d) Babington.

muestra líquida es aspirada a través de un capilar por una corriente de gas a elevada presión que fluye alrededor del extremo del capilar (efecto Venturi). Este proceso se denomina *aspiración*. El gas a elevada velocidad rompe el líquido en finas gotitas de distinto tamaño, que son conducidas al atomizador. También se emplea el nebulizador de flujo cruzado, que se muestra en la Figura 8-9b, en el que el gas a elevada presión cruza perpendicularmente el extremo del capilar. Frecuentemente en este tipo de nebulizador, el líquido se bombea a través del capilar. La Figura 8-9c muestra un esquema de un nebulizador de disco fritado, en el que la disolución de la muestra se bombea sobre una superficie de vidrio fritado a través de la cual fluye el gas portador. Este tipo de nebulizador produce un aerosol mucho más fino que los dos primeros. La Figura 8-9d muestra un nebulizador Babington, que consiste en una esfera hueca en la que el gas a elevada presión se bombea a través de un pequeño orificio en la superficie de la esfera. El líquido, que cae formando una delgada película sobre la superficie de la esfera, se nebuliza al expandirse el chorro del gas. Este tipo de nebulizador está menos expuesto a sufrir obstrucciones y, por ello, es de mayor utilidad en el caso de muestras con un contenido salino elevado o de suspensiones con un contenido de partículas alto.

Nebulizadores ultrasónicos

Varios fabricantes de instrumentos también ofrecen nebulizadores ultrasónicos, en los que la muestra se bombea sobre la superficie de un cristal piezoeléctrico que vibra a una frecuencia de 20 kHz a varios MHz. Dichos nebulizadores producen aerosoles más densos y más homogéneos que los nebulizadores neumáticos.

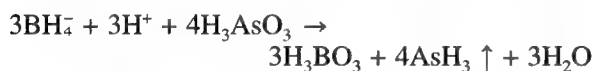
Vaporizadores electrotérmicos

Un vaporizador electrotérmico (ETV) es un evaporador situado en una cámara cerrada a través de la cual un gas inerte, como el argón, transporta la muestra vaporizada al atomizador. Una pequeña muestra líquida o sólida se sitúa sobre un conductor, como un filamento de tántalo o una barra de carbono. Una corriente eléctrica entonces evapora la muestra rápida y completamente mezclándose con el argón. En contraste con los anteriores nebulizadores, el sistema electrotérmico produce una señal discreta en vez de una señal continua. Es decir, la señal de la muestra atomizada aumenta hasta un máximo y después disminuye hasta cero a medida que la muestra sale del atomizador. Los análisis cuantitativos se realizan a partir de las alturas o áreas de los picos obtenidos.

Técnicas de generación de hidruros

Las técnicas de generación de hidruros proporcionan un método para introducir muestras que contienen arsénico, antimonio, estaño, selenio, bismuto y plomo en un atomizador en forma de gas⁵. Dicho procedimiento mejora los límites de detección de estos elementos de 10 a 100 veces. Debido a que varias de estas especies son altamente tóxicas, es de considerable importancia su determinación a concentraciones bajas. Su toxicidad obliga también a que los gases producidos en la atomización deban eliminarse de una manera segura y eficaz.

Generalmente se pueden generar rápidamente hidruros volátiles adicionando una disolución acuosa acidificada de la muestra a un volumen pequeño de una disolución acuosa al 1 por 100 de borohidruro de sodio en un frasco de vidrio; una reacción característica se puede representar por la expresión



El hidruro volátil —en este caso, arsina— es arrastrado a la cámara de atomización por un gas inerte. La cámara generalmente es un tubo de sílice calentado a varios cientos de grados centígrados en un horno o en una llama, donde se descompone el hidruro originándose los átomos del analito. La concentración del mismo se determina por la medida de la absorción o de la emisión. La señal es un pico semejante al obtenido con la atomización electrotrémica.

8C-2. Introducción de muestras sólidas⁶

La introducción de sólidos en forma de polvo, metal o partículas en atomizadores de plasma o llama tiene la considerable ventaja de evitar la etapa, con frecuencia tediosa y larga, de descomposición y disolución de la muestra. Dichos procedimientos, sin embargo, presentan frecuentemente dificultades

⁵ Para un estudio detallado de estos métodos, véase T. Nakahara, en *Sample Introduction in Atomic Spectroscopy*, J. Sneddon, Ed., Capítulo 10. New York: Elsevier, 1990; J. Didina y D. L. Tsalev, *Hydride Generation Atomic Spectroscopy*, New York: Wiley, 1995.

⁶ Para una descripción de las técnicas de introducción de sólidos, véase C. M. McLeod, M. W. Routh y M. W. Tikkanen, en *Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry*, 2.^a ed., A. Montaser y D. W. Golightly, Eds., Capítulo 16. New York: VCH Publishers, Inc., 1992.

importantes en la calibración, acondicionamiento de la muestra, precisión y exactitud.

Durante las dos últimas décadas se han propuesto distintas técnicas para introducir directamente las muestras sólidas en los atomizadores, evitando así la necesidad de disolver o descomponer la muestra. Estas técnicas son muy variadas, entre ellas se incluyen: (1) la inserción manual directa del sólido en el dispositivo atomizador, (2) la vaporización electrotrémica de la muestra y transporte del vapor a la zona de atomización, (3) la ablación por láser o arco/chispa del sólido para producir un vapor que es arrastrado al interior del atomizador, (4) la nebulización de una suspensión en la que la muestra sólida finamente dividida se conduce al atomizador como un aerosol formado por una suspensión del sólido en un medio líquido, y (5) el chisporroteo en un dispositivo de descarga luminiscente. Ninguno de estos procedimientos produce resultados tan satisfactorios como los de la introducción de la muestra por nebulización de disoluciones de la misma. La mayoría de estas técnicas produce señales analíticas discretas en vez de señales continuas.

Inserción directa de la muestra

En la técnica de inserción directa, la muestra se sitúa físicamente dentro del atomizador. En el caso de muestras sólidas, pueden reducirse a polvo y situarse sobre o dentro de una sonda que se inserta directamente dentro del atomizador. Con frecuencia en los atomizadores de arco o chispa eléctricos, las muestras metálicas se introducen como uno de los electrodos o ambos electrodos utilizados para producir el arco o la chispa.

Vaporizadores electrotrémicos

Los vaporizadores electrotrémicos, que ya se han descrito brevemente en un apartado anterior, también se utilizan para varios tipos de muestras sólidas, además de las muestras en disolución. El calentamiento se produce por calentamiento conductivo de la muestra mantenida sobre o dentro de una barra o navicilla de grafito o tántalo. Un gas inerte transporta la muestra vaporizada al interior del atomizador.

Ablación por arco y chispa

Las descargas eléctricas de varios tipos se utilizan con frecuencia para introducir muestras sólidas en

los atomizadores. La interacción de la descarga con la superficie de la muestra sólida crea una nube formada por la muestra en forma de partículas y vaporizada, que es transportada al atomizador por medio de un gas inerte. Este proceso de introducción de la muestra se denomina *ablación*.

Para que la ablación por arco y chispa dé buenos resultados, la muestra debe ser conductora de la electricidad o debe mezclarse con un conductor. La ablación normalmente se realiza en una atmósfera inerte, como puede ser una corriente de argón. Dependiendo de la naturaleza de la muestra, la señal analítica resultante puede ser discreta o continua. Varios fabricantes de instrumentos venden accesorios para la ablación por arco o chispa eléctricos.

Hay que destacar que los arcos y las chispas producen también la atomización y la excitación de los espectros de emisión atómicos utilizados en el análisis. Además, una chispa produce un número significativo de iones que se pueden separar y determinar por espectrometría de masas.

Ablación por láser

La ablación por láser es un método relativamente nuevo y versátil para introducir las muestras sólidas en los atomizadores. De forma similar a la ablación por arco y chispa, un haz de láser focalizado de la energía necesaria se dirige a la superficie de la muestra sólida, donde se produce la ablación, convirtiendo la muestra en una nube de materia vaporizada y en forma de partículas que es arrastrada al atomizador.

La ablación por láser es una técnica versátil, ya que es aplicable a sólidos conductores y no conductores, muestras orgánicas e inorgánicas, materiales pulverulentos o metálicos. Además de para el análisis global, el haz de láser focalizado permite el análisis de pequeñas áreas de la superficie de los sólidos. Distintos fabricantes de instrumentos venden dichos muestreadores láser.

Técnica de la descarga luminiscente⁷

El dispositivo de descarga luminiscente (GD) es una fuente versátil que permite introducir y ato-

mizar la muestra simultáneamente (véase la Figura 8-10). Brevemente, la descarga luminiscente tiene lugar en una atmósfera de argón a baja presión (1 a 10 torr) entre un par de electrodos que están a un potencial de 250 a 1.000 V. El potencial aplicado causa la descomposición del argón en iones positivos y electrones. El campo eléctrico acelera los iones argón hacia la superficie del cátodo que contiene la muestra. Se produce la expulsión de átomos neutros de la muestra por un proceso denominado *chisporroteo*. La velocidad de chisporroteo llega a valores de hasta 100 $\mu\text{g}/\text{min}$.

El vapor atómico producido en una descarga luminiscente está compuesto por una mezcla de átomos e iones que pueden ser analizados por espectrometría de masas, de absorción o fluorescencia atómicas. Además, una fracción de las especies atomizadas presentes en el vapor se encuentran en estado excitado. La relajación de las especies excitadas produce una descarga de baja intensidad (de ahí el nombre) que puede utilizarse para medidas de emisión óptica.

La aplicación más importante del atomizador de descarga luminiscente ha sido el análisis de metales y otras muestras conductoras; aunque con alguna modificación, también se ha utilizado con muestras líquidas y materiales no conductores mezclándolos con un conductor, como polvo de grafito o polvo de cobre puro.

Algunas casas comerciales disponen de fuentes de descarga luminiscente de distintos tipos.

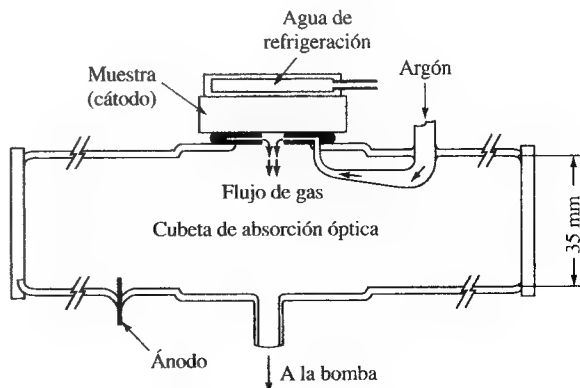
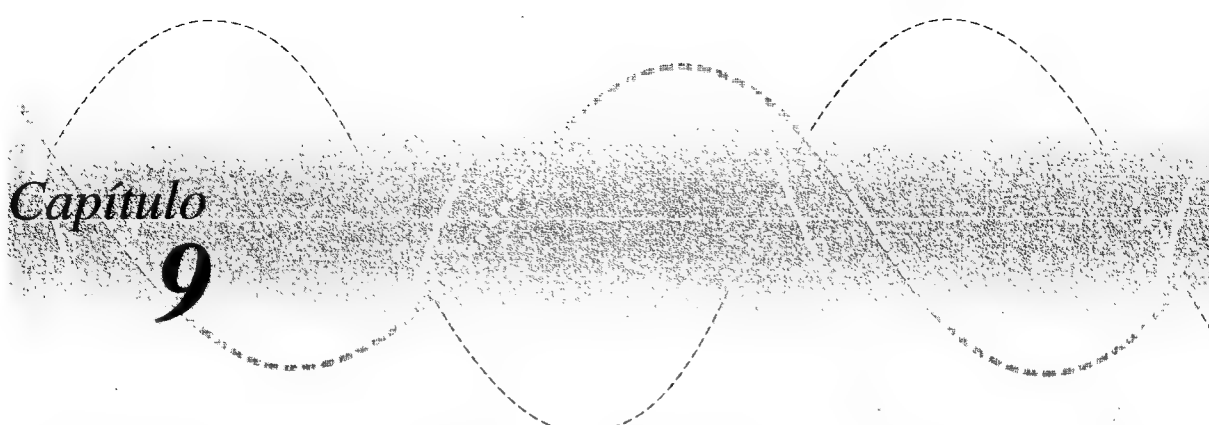


Figura 8-10. Atomizador de descarga luminiscente. (Reproducción autorizada de D. S. Gough, P. Hannaford y R. M. Lowe, *Anal. Chem.*, 1989, 61, 1653).

⁷ Véase R. K. Marcus, T. R. Harville, Y. Mei y C. R. Shick, *Anal. Chem.*, 1994, 66, 902A; W. W. Harrison, C. M. Barshick, J. A. Kingler, P. H. Ratliff e Y. Mei, *Anal. Chem.*, 1990, 62, 943A; R. K. Marcus, *Spectroscopy*, 1992, 7(5), 12; *Glow Discharge Spectroscopies*, R. K. Marcus, Ed., New York: Plenum Press, 1993.

8D. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 8-1.** ¿Por qué el espectro del CaOH en la Figura 8-8 es mucho más ancho que la línea de emisión del Ba?
- 8-2.** ¿Qué es la fluorescencia de resonancia?
- 8-3.** ¿En qué condiciones se puede producir un desplazamiento Stokes en espectroscopia atómica?
- 8-4.** ¿Qué es la anchura natural de línea para las líneas de emisión y absorción atómicas?
- 8-5.** Se observa que en una llama caliente las intensidades de emisión de las líneas del sodio a 589,0 y 589,6 nm son mayores en una disolución de una muestra que contiene KCl que cuando este compuesto está ausente. Sugérase una explicación.
- 8-6.** La intensidad de una línea del Cs atómico es mucho menor en una llama de gas natural, que alcanza 1.800 °C, que en una llama de hidrógeno/oxígeno, cuya temperatura es de 2.700 °C. Justifíquese.
- 8-7.** Nómbrase un tipo de atomizador continuo y otro no continuo utilizados en espectrometría atómica. ¿Cómo se diferencian las señales de salida del espectrómetro en cada caso?
- 8-8.** El efecto Doppler es una de las causas de ensanchamiento de línea en espectroscopia de absorción atómica. Los átomos que se mueven hacia la fuente de luz captan una radiación de mayor frecuencia que los átomos que se alejan de la fuente. La diferencia en longitud de onda, $\Delta\lambda$, para un átomo que se mueve a una velocidad v (con respecto a uno que permanece inmóvil) es $\Delta\lambda/\lambda = v/c$, donde c es la velocidad de la luz. Calcular la anchura de línea (en Å) de la línea D del sodio (5.893 Å) cuando los átomos que absorben se encuentran a una temperatura de (a) 2.200 K y (b) 3.000 K. La velocidad media de un átomo viene dada por $v = \sqrt{8kT/\pi m}$ donde k es la constante de Boltzmann, T es la temperatura y m es la masa.
- 8-9.** Para los átomos de Na y los iones Mg^+ , comparar el cociente entre el número de partículas en estado excitado $3p$ y en estado fundamental en
- (a) una llama de gas natural/aire (2.100 K).
 - (b) una llama de hidrógeno/oxígeno (2.900 K).
 - (c) una fuente de plasma de acoplamiento inductivo (6.000 K).
- 8-10.** En fuentes de alta temperatura, los átomos de sodio emiten un doblete con una longitud de onda media de 1.139 nm. La transición responsable es del estado $4s$ al $3p$. Calcular el cociente entre el número de átomos excitados en el estado $4s$ y el número en estado fundamental $3s$ en
- (a) una llama de acetileno/oxígeno (3.000 °C).
 - (b) la parte más caliente de una fuente de plasma de acoplamiento inductivo (~ 9.000 °C).
- 8-11.** En el intervalo de concentración de 500 a 2.000 ppm de U, se encuentra una relación lineal entre la absorbancia a 351,5 nm y la concentración. A concentraciones más bajas la relación deja de ser lineal, a menos que se introduzcan 2.000 ppm aproximadamente de una sal de un metal alcalino en la muestra. Justifíquese.



Capítulo 9

Espectrometría de absorción atómica y de fluorescencia atómica

En este capítulo se consideran dos tipos de métodos espectrométricos ópticos atómicos que utilizan técnicas similares para la introducción de la muestra y la atomización. La primera es la espectrometría de absorción atómica (AAS), que ha sido el método más ampliamente utilizado durante casi medio siglo para la determinación de elementos en muestras analíticas. La segunda es la espectrometría de fluorescencia atómica (AFS), que desde mediados de los años sesenta se ha estudiado ampliamente. Sin embargo, en contraste con el método absorciométrico, la fluorescencia atómica no ha alcanzado un uso generalizado en el análisis rutinario de elementos. Por eso, mientras distintos fabricantes de instrumentación ofrecen actualmente una variedad de espectrómetros de absorción atómica, ningún instrumento de fluorescencia atómica se encuentra en estos momentos comercializado. Debido a esta diferencia en su empleo, se dedica la mayor parte de este capítulo a la espectrometría de absorción atómica¹ y un breve apartado a la descripción de la espectrometría de fluorescencia atómica al final.

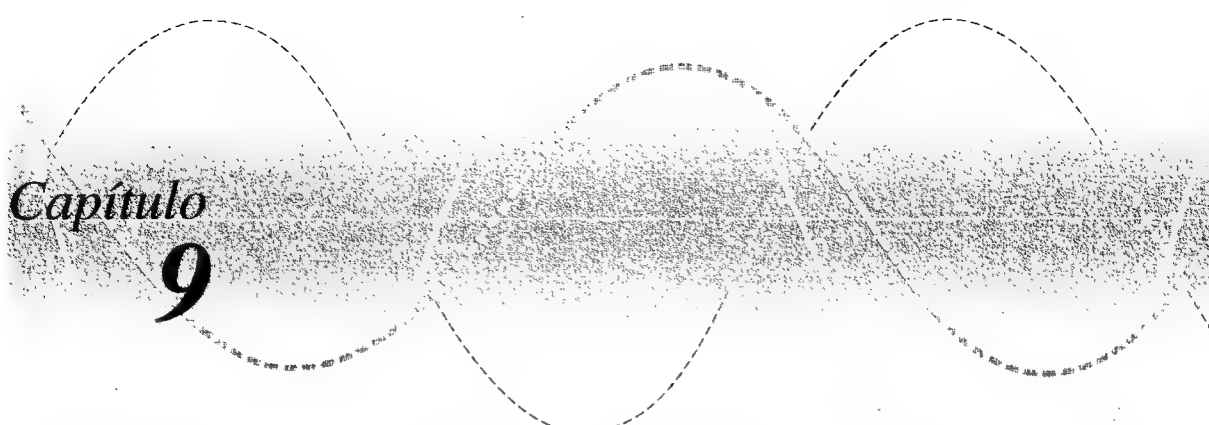
9A. TÉCNICAS DE ATOMIZACIÓN DE LA MUESTRA

En este apartado primeramente se describen con detalle los dos métodos más habituales de atomizar la muestra en la espectrometría de absorción atómica y de fluorescencia atómica: la atomización con una llama y la atomización electrotérmica. Más tarde se describirán tres procedimientos de atomización bastante especializados que también se utilizan en ambos tipos de espectrometría.

9A-1. Atomización con llama

En un atomizador de llama, la disolución de la muestra es nebulizada mediante un flujo de gas

¹ Referencias generales sobre la espectrometría de absorción atómica incluyen: L. H. J. Lajunen, *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1992; B. Magyar, *Guide-Lines to Planning Atomic Spectrometric Analysis*. New York: Elsevier, 1982; J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, Capítulo 10. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 1988; B. Welz, *Atomic Absorption Spectrometry*, 2.^a ed. New York: VCH Publishers, 1985. Para una historia del desarrollo de la AAS, véase S. R. Koortyohann, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 1024A; W. Slavin, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 1033A.



Capítulo 9

Espectrometría de absorción atómica y de fluorescencia atómica

En este capítulo se consideran dos tipos de métodos espectrométricos ópticos atómicos que utilizan técnicas similares para la introducción de la muestra y la atomización. La primera es la espectrometría de absorción atómica (AAS), que ha sido el método más ampliamente utilizado durante casi medio siglo para la determinación de elementos en muestras analíticas. La segunda es la espectrometría de fluorescencia atómica (AFS), que desde mediados de los años sesenta se ha estudiado ampliamente. Sin embargo, en contraste con el método absorciométrico, la fluorescencia atómica no ha alcanzado un uso generalizado en el análisis rutinario de elementos. Por eso, mientras distintos fabricantes de instrumentación ofrecen actualmente una variedad de espectrómetros de absorción atómica, ningún instrumento de fluorescencia atómica se encuentra en estos momentos comercializado. Debido a esta diferencia en su empleo, se dedica la mayor parte de este capítulo a la espectrometría de absorción atómica¹ y un breve apartado a la descripción de la espectrometría de fluorescencia atómica al final.

9A. TÉCNICAS DE ATOMIZACIÓN DE LA MUESTRA

En este apartado primeramente se describen con detalle los dos métodos más habituales de atomizar la muestra en la espectrometría de absorción atómica y de fluorescencia atómica: la atomización con una llama y la atomización electrotérmica. Más tarde se describirán tres procedimientos de atomización bastante especializados que también se utilizan en ambos tipos de espectrometría.

9A-1. Atomización con llama

En un atomizador de llama, la disolución de la muestra es nebulizada mediante un flujo de gas

¹ Referencias generales sobre la espectrometría de absorción atómica incluyen: L. H. J. Lajunen, *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1992; B. Magyar, *Guide-Lines to Planning Atomic Spectrometric Analysis*. New York: Elsevier, 1982; J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, Capítulo 10. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 1988; B. Welz, *Atomic Absorption Spectrometry*, 2.^a ed. New York: VCH Publishers, 1985. Para una historia del desarrollo de la AAS, véase S. R. Koortyohann, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 1024A; W. Slavin, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 1033A.

oxidante, mezclado con el gas combustible, y se transporta a una llama donde se produce la atomización. Como se muestra en la Figura 9-1, una serie compleja de procesos encadenados tiene lugar en la llama. El primero es la desolvatación, en el que se evapora el disolvente hasta producir un aerosol *molecular* sólido finamente dividido. Luego la disociación de la mayoría de estas moléculas produce un gas atómico. La mayoría de los átomos así formados se ionizan originando cationes y electrones. Indudablemente se producen también otras moléculas y átomos en la llama como resultado de las interacciones del gas combustible con el gas oxidante y con las distintas especies de la muestra. Como se indica en la Figura 9-1, una fracción de las moléculas, átomos e iones también se excita por el calor de la llama, produciéndose así espectros de emisión moleculares, atómicos e iónicos. Produciéndose tantos procesos complejos, no es sorprendente que la atomización sea la etapa más crítica en la espectroscopia de llama y la que limita la precisión de dichos métodos. Debido a la naturaleza crítica de la etapa de atomización, es importante com-

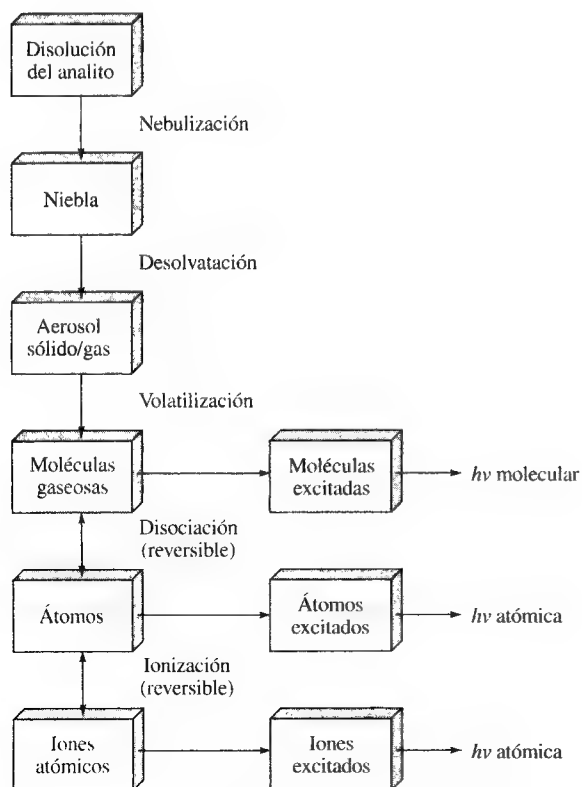


Figura 9-1. Procesos que tienen lugar durante la atomización.

prender las características de las llamas y las variables que afectan a dichas características.

Tipos de llamas

En la Tabla 9-1 se enumeran los combustibles y oxidantes más comunes utilizados en espectroscopia de llama y los intervalos aproximados de temperatura alcanzados con cada una de estas mezclas. Hay que destacar que cuando se utiliza el aire como oxidante se obtienen temperaturas de 1.700 a 2.400 °C con varios combustibles. A estas temperaturas sólo las muestras que se descomponen fácilmente se atomizan. Para la mayoría de las muestras refractarias, se debe emplear oxígeno u óxido nitroso como oxidante. Estos oxidantes producen temperaturas de 2.500 a 3.100 °C con los combustibles habituales.

Las velocidades de combustión indicadas en la cuarta columna de la Tabla 9-1 son de considerable importancia, porque las llamas sólo son estables en ciertos intervalos de caudal. Si el caudal no sobrepasa la velocidad de combustión, la llama se propaga hacia el interior del quemador, dando un fogonazo. Cuando el caudal aumenta, la llama sube hasta alcanzar un punto por encima del quemador donde el caudal y la velocidad de combustión son iguales. En esta región es donde la llama es estable. A caudales más elevados, la llama sube y al final alcanza un punto donde se aparta del mechero y se apaga. Estas consideraciones ponen de relieve la importancia de controlar el caudal de la mezcla combustible/oxidante. Este caudal depende mucho del tipo de combustible y de oxidante utilizados.

Estructura de la llama

Como se muestra en la Figura 9-2, las regiones más importantes de la llama son la *zona de combustión primaria*, la *región interconal* y la *zona de combustión secundaria*. El aspecto y el tamaño relativo de estas regiones varía considerablemente con la relación combustible-oxidante, así como con el tipo de combustible y de oxidante. La zona de combustión primaria en una llama de hidrocarburos se reconoce por su coloración azul que proviene de los espectros de bandas de C_2 , CH y otros radicales. En general, en esta zona no se alcanza el equilibrio térmico y, por ello, esta zona rara vez se utiliza en la espectroscopia de llama.

La región interconal, que es relativamente estrecha en llamas de hidrocarburo estequiométricas, puede alcanzar varios centímetros de altura con

TABLA 9-1. Propiedades de las llamas

Combustible	Oxidante	Temperaturas (°C)	Velocidad de combustión máxima (cm s ⁻¹)
Gas natural	Aire	1.700-1.900	39-43
Gas natural	Oxígeno	2.700-2.800	370-390
Hidrógeno	Aire	2.000-2.100	300-440
Hidrógeno	Oxígeno	2.550-2.700	900-1.400
Acetileno	Aire	2.100-2.400	158-266
Acetileno	Oxígeno	3.050-3.150	1.100-2.480
Acetileno	Óxido nitroso	2.600-2.800	285

fuentes ricas en combustible de acetileno/oxígeno o acetileno/óxido nitroso. La zona es frecuentemente rica en átomos libres y es la parte de la llama más ampliamente utilizada en espectroscopia. En la zona de combustión secundaria, los productos formados en la región interior se convierten en óxidos moleculares estables que se dispersan por los alrededores.

El perfil de la llama proporciona información útil respecto a los procesos que tienen lugar en las distintas partes de la llama; es una representación de contornos que muestra las regiones de la llama donde una variable de interés tiene valores similares. Algunas de estas variables son la temperatura, la composición química, la absorbancia y la intensidad radiante o fluorescente.

Perfiles de temperatura. La Figura 9-3 muestra el perfil de temperatura de una llama característica para espectroscopia atómica. La temperatura máxi-

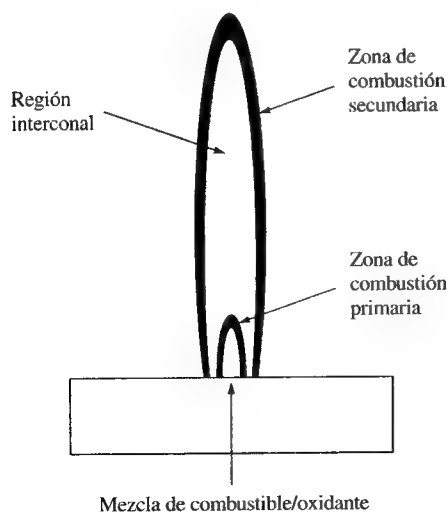


Figura 9-2. Regiones en una llama.

ma se localiza aproximadamente 1 cm por encima de la zona de combustión primaria de la llama. Es importante —especialmente en los métodos de emisión— enfocar la misma parte de la llama con la rendija de entrada en todas las medidas analíticas y de calibración.

Perfiles de absorbancia de la llama. La Figura 9-4 muestra los perfiles de absorción característicos para tres elementos. El magnesio presenta un máximo de absorbancia aproximadamente a la mitad de la llama debido a dos efectos opuestos. El aumento inicial de la absorbancia a medida que la distancia a la base de la llama aumenta se debe al

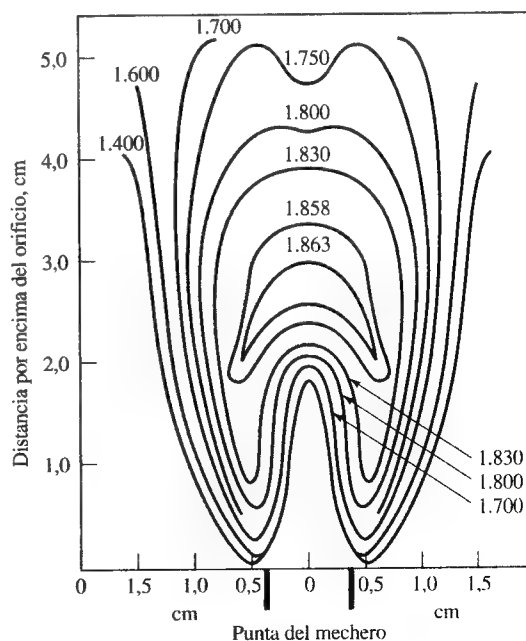


Figura 9-3. Perfiles de temperatura en °C en una llama de gas natural/aire. (De B. Lewis y G. van Elbe, J. Chem. Phys., 1943, 11, 94. Con autorización.)

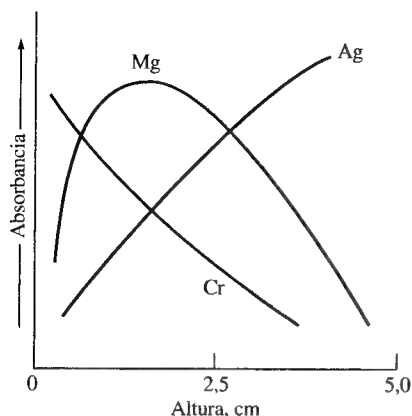


Figura 9-4. Perfil de absorbancia de la llama para tres elementos.

gran número de átomos de magnesio producidos por el mayor tiempo de exposición al calor de la llama. Sin embargo, al acercarse a la zona secundaria de combustión comienza una apreciable oxidación del magnesio. Este proceso origina el consiguiente descenso de la absorbancia, ya que las partículas de óxido formadas no absorben a la longitud de onda empleada. Por ello, para obtener la máxima sensibilidad analítica, la llama debe ajustarse con respecto al haz hasta obtener una absorbancia máxima.

El comportamiento de la plata, la cual no se oxida fácilmente, es bastante diferente; como se muestra en la Figura 9-4, se observa un aumento

continuo del número de átomos y, por tanto, de la absorbancia desde la base hasta la periferia de la llama. Por el contrario, el cromo, que forma óxidos muy estables, muestra una disminución continua de la absorbancia desde una zona próxima al extremo del mechero; lo que sugiere que la formación de óxidos predomina desde el principio. Sin duda, para el análisis de cada uno de estos elementos se debería utilizar una zona distinta de la llama. Los instrumentos más sofisticados utilizados en espectroscopia de llama están equipados con monocromadores que analizan la radiación de una región relativamente pequeña de la llama; el ajuste de la posición de la llama respecto a la rendija de entrada es, por tanto, crítico.

Atomizadores de llama

Los atomizadores de llama se emplean en espectroscopia de emisión, absorción y fluorescencia atómica. La Figura 9-5 muestra el diagrama de un típico mechero de flujo laminar de fabricación comercial que emplea un nebulizador de tubo concéntrico, como el que aparece en la Figura 8-9a. El aerosol, formado por el flujo del gas oxidante, se mezcla con el combustible y pasa a través de una serie de deflectores que eliminan las gotitas de disolución que no sean muy finas. Como consecuencia de la acción de estos deflectores, la mayor parte de la muestra se recoge en el fondo de la cámara de mezcla, donde se drena hacia un contenedor de de-

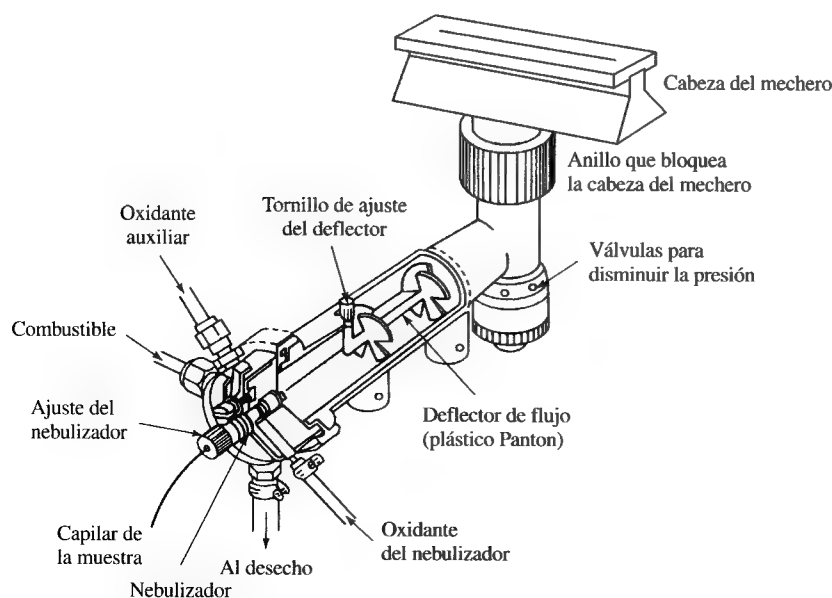


Figura 9-5. Mechero de flujo laminar. (Cortesía de Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, CT.)

sechos. El aerosol, el oxidante y el combustible se queman pues en un mechero provisto de una ranura, que produce una llama que generalmente mide entre 5 y 10 cm de longitud.

Los mecheros de flujo laminar proporcionan una llama relativamente estable y larga. Estas propiedades tienden a aumentar la sensibilidad y la reproducibilidad. La cámara de mezcla en este tipo de mechero contiene una mezcla potencialmente explosiva, que se puede prender por el retroceso de la llama, si su caudal es demasiado bajo. Obsérvese que, por esta razón, el mechero de flujo laminar mostrado en la Figura 9-5 está equipado con unas válvulas para disminuir la presión.

Reguladores de combustible y oxidante. En la espectroscopia de llama, los caudales de oxidante y de combustible constituyen variables importantes que requieren un control preciso. Es deseable poder variar cada uno de ellos en un intervalo amplio para poder encontrar experimentalmente las condiciones óptimas para la atomización. Por lo general, el combustible y el oxidante se combinan aproximadamente en una proporción estequiométrica. Sin embargo, en la determinación de metales que forman óxidos estables es más conveniente el empleo de una llama que contenga un exceso de combustible. Los caudales se controlan, por lo general, por medio de reguladores de presión de doble diafragma seguidos de válvulas de aguja situadas en el instrumento. El sistema de medida de caudal más empleado es el rotámetro, que consiste en un tubo cónico, graduado y transparente montado verticalmente con su extremo más estrecho hacia abajo. El flujo de gas levanta un flotador liviano, cónico o esférico, cuya posición vertical está determinada por el caudal de gas.

Características del funcionamiento de los atomizadores de llama. En términos de reproducibilidad, la atomización con llama resulta ser superior a todos los demás métodos que se han desarrollado hasta ahora para la introducción de muestras líquidas tanto para la espectrometría de absorción atómica como de fluorescencia atómica. Sin embargo, en términos de eficacia en la introducción de la muestra y, por ello, de sensibilidad, otros métodos de atomización son claramente mejores. Pueden citarse dos razones para la menor eficacia de la introducción de la muestra en la llama. En primer lugar, una gran porción de la muestra se pierde por el drenaje. En segundo lugar, el tiempo de residencia de

los átomos individuales en el camino óptico en la llama es breve ($\approx 10^{-4}$ s).

9A-2. Atomización electrotérmica

Los atomizadores electrotérmicos, que aparecieron por primera vez en el comercio aproximadamente en 1970, proporcionan generalmente una mayor sensibilidad debido a que toda la muestra se atomiza en un período muy corto y el tiempo promedio de permanencia de los átomos en el camino óptico es de un segundo o más². Los atomizadores electrotérmicos se utilizan para las medidas de absorción atómica y de fluorescencia atómica, pero, por lo general, no se han aplicado para la obtención directa de espectros de emisión. Sin embargo, se están empezando a utilizar para vaporizar las muestras para la introducción de las mismas en espectroscopia de emisión en plasma de acoplamiento inductivo.

En los atomizadores electrotérmicos, unos pocos microlitros de muestra se evaporan primero a baja temperatura y, luego, se calcinan a una temperatura algo más alta en un tubo de grafito, similar al de la Figura 9-6b, o cubeta de grafito calentado eléctricamente. Tras la calcinación, la corriente se incrementa rápidamente a varios cientos de amperios, lo que eleva la temperatura a unos 2.000 o 3.000 °C; la atomización de la muestra se produce en un período de tiempo de unos pocos milisegundos a segundos. En estas condiciones, se mide la absorción o la fluorescencia de las partículas atomizadas en la zona situada inmediatamente por encima de la superficie calentada.

Atomizadores electrotérmicos

La Figura 9-6a representa una sección transversal de un atomizador electrotérmico comercial. En este sistema, la atomización tiene lugar en un tubo cilíndrico de grafito abierto por ambos extremos y que tiene un orificio central para la introducción de la muestra mediante una micropipeta. El tubo es de

² Para una explicación detallada de los atomizadores electrotérmicos, véase C. W. Fuller, *Electrothermal Atomization for Atomic Absorption Spectroscopy*. London: The Chemical Society, 1978; A. Varma, *CRC Handbook of Furnace Atomic Absorption Spectroscopy*. Boca Raton: CRC Press, 1989. Para revisiones cortas, véase B. V. L'vov, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 924 A; S. R. Koirtyohann y M. L. Kaiser, *Anal. Chem.*, **1982**, 54, 1515A; G. R. Carnick y W. Slavin, *Amer. Lab.*, **1988** (11), 88, **1989** (2), 90.

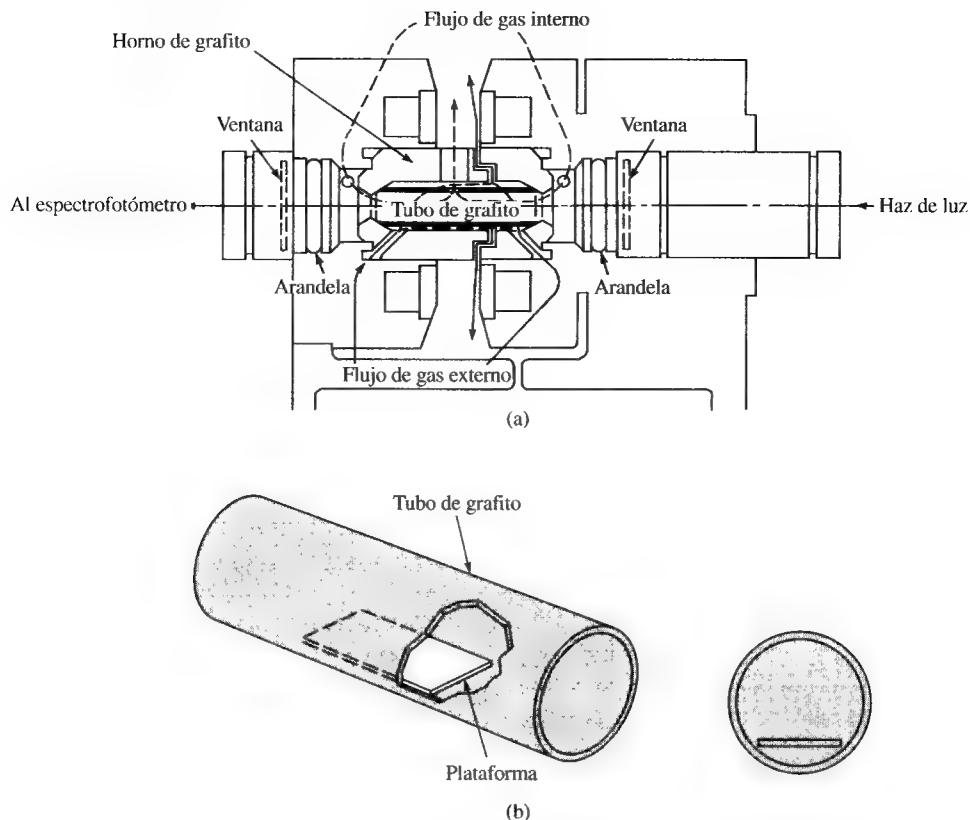


Figura 9-6. (a) Sección transversal de un horno de grafito. (Cortesía de Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, CT.) (b) Plataforma de L'vov y su posición en el horno de grafito. (Reproducción autorizada de W. Slavin, *Anal. Chem.*, **1982**, 54, 689A. Copyright 1982 American Chemical Society.)

unos 5 cm de largo y tiene un diámetro interno de algo menos de 1 cm. El tubo intercambiable de grafito se ajusta perfectamente a un par de contactos eléctricos de grafito cilíndricos que se ubican en los dos extremos del tubo. Estos contactos se mantienen dentro de una caja metálica refrigerada por agua. Existen dos corrientes de gas inerte. La corriente externa previene la entrada de aire exterior y la consiguiente incineración del tubo. La corriente interna fluye por entre los dos extremos del tubo y sale por el orificio central del compartimento de muestra. Esta corriente no sólo elimina el aire sino que sirve también para desalojar los vapores generados a partir de la matriz de la muestra durante las dos primeras etapas de calentamiento.

La Figura 9-6b ilustra la denominada plataforma de L'vov, que se utiliza con frecuencia en los hornos de grafito, como el que se muestra en la Figura 9-6a. La plataforma también es de grafito y se encuentra debajo del orificio de entrada de la muestra. La muestra se evapora y se calcina sobre esta plataforma de la manera usual. Sin embargo,

cuando la temperatura del tubo se eleva rápidamente, la atomización se retrasa, ya que la muestra no está el tiempo suficiente en contacto directo con la pared del horno. Por tanto, la atomización tiene lugar en un medio en el que no se produce un cambio tan rápido de temperatura. De este modo se obtienen picos más reproducibles.

Se ha demostrado empíricamente que reduciendo la porosidad natural del tubo de grafito, se pueden mitigar algunos de los efectos de la matriz de la muestra y la pobre reproducibilidad, asociados a la atomización en horno de grafito. Durante la atomización, parte del analito y de la matriz difunden aparentemente en el tubo, lo que hace más lento el proceso de atomización, obteniéndose así señales más bajas del analito. Para evitar este efecto, la mayoría de las superficies de grafito se recubren con una delgada capa de carbono pirolítico, que permite sellar los poros del tubo de grafito. El grafito pirolítico es un tipo de grafito que se ha depositado capa a capa en un medio altamente homogéneo, lo que se consigue pasando una mezcla

de gas inerte y un hidrocarburo como metano a través del tubo mientras se mantiene a una temperatura elevada.

Señal de salida

A la longitud de onda a la que tiene lugar la absorción o la fluorescencia, la señal del detector aumenta al máximo algunos segundos después de la ignición y cae rápidamente a cero cuando los productos de la atomización salen fuera. El cambio es lo suficientemente rápido (con frecuencia < 1 s) como para necesitar un sistema de adquisición de datos de alta velocidad. Los análisis cuantitativos se basan por lo general en la medida de la altura de pico, aunque también se ha utilizado el área de pico.

La Figura 9-7 muestra las señales de salida características de un espectrofotómetro de absorción atómica equipado con un atomizador electrotérmico. Al atomizar una muestra de $2 \mu\text{L}$ de zumo de naranja enlatado, se obtuvo la serie de cuatro picos de la derecha, los cuales corresponden a la variación de la absorbancia con el tiempo a la longitud de onda de un pico del plomo. En la desecación y la calcinación se producen tres picos, que probablemente se deben a productos moleculares de la evaporación y a partículas producidas en la ignición. Los tres picos de la izquierda son de los patrones de plomo empleados en la calibración. El pico de muestra más a la derecha indica una concentración de plomo en el zumo de $0,1 \mu\text{g/mL}$ aproximadamente.

Características del funcionamiento de los atomizadores electrotérmicos

Los atomizadores electrotérmicos ofrecen la ventaja de su elevada sensibilidad para pequeños volúmenes de muestra. En general, se utilizan volúmenes de muestra entre $0,5$ y $10 \mu\text{L}$; en estas condiciones, los límites de detección absolutos se encuentran normalmente en el intervalo de 10^{-10} – 10^{-13} g de analito³.

La precisión relativa de los métodos sin llama se encuentra generalmente en el intervalo del 5 al 10 por 100 en comparación con el 1 por 100 o menos que se puede esperar en la atomización con llama o plasma. Además, los métodos de horno son lentos —requiriendo habitualmente varios minutos

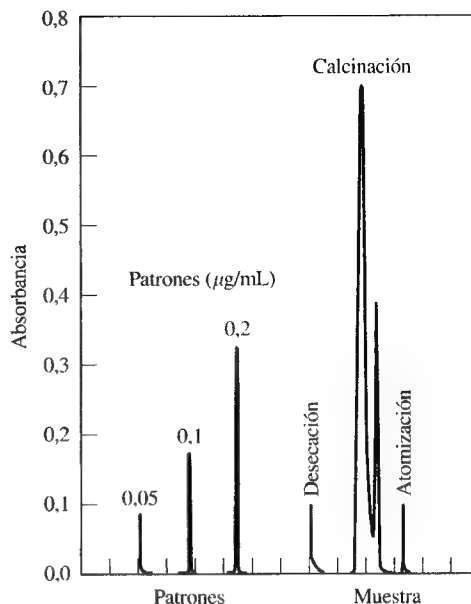


Figura 9-7. Señal de salida típica de un espectrofotómetro equipado con un atomizador electrotérmico. La muestra era $2 \mu\text{L}$ de zumo de naranja enlatado. Los tiempos de desolvatación y calcinación fueron 20 s y 60 s respectivamente. (Cortesía de Varian Instrument Division, Palo Alto, CA.)

por elemento—. Otra desventaja es que el intervalo analítico es pequeño, siendo por lo general menor de dos órdenes de magnitud. Por todo ello, la atomización electrotérmica se aplica normalmente sólo cuando la atomización con llama o plasma proporcionan límites de detección inadecuados.

Análisis de sólidos con atomizadores electrotérmicos

En la mayoría de los métodos basados en atomizadores electrotérmicos, las muestras se introducen como disoluciones. Sin embargo, en la bibliografía se describe la utilización de este tipo de atomizador para el análisis directo de muestras sólidas. Una manera de realizar dichas medidas es pesar la muestra finamente pulverizada en una navicilla de grafito e insertar dicha navicilla manualmente en el horno. Una segunda manera es preparar una suspensión de la muestra pulverulenta mediante agitación por ultrasonidos en un medio acuoso. La suspensión se pipetea pues al interior del horno para su atomización⁴.

³ Para comparar las características de funcionamiento de ocho espectrómetros modernos con horno de fabricación comercial, véase *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 51A.

⁴ Véase, por ejemplo N. J. Miller-Ihli, *Anal. Chem.*, **1992**, 64, 964A.

9A-3. Técnicas especializadas de atomización

Las técnicas más habituales de introducción y atomización de la muestra en los análisis por absorción atómica son las llamas y los vaporizadores electrotérmicos. Sin embargo, otros métodos de atomización se usan ocasionalmente. Tres de ellos se describen brevemente en este apartado.

Atomización por descarga luminiscente

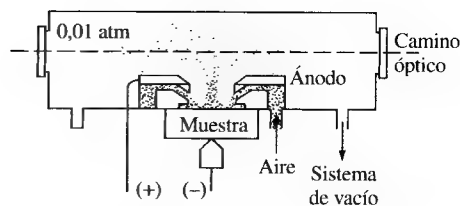
Como se indicó en el Apartado 8C-2 (página 215), un dispositivo de descarga luminiscente produce un vapor atómico que puede llevarse a una celda para realizar medidas de absorción. La Figura 9-8a muestra una celda de descarga luminiscente comercializada desde 1987, que puede utilizarse como un accesorio en la mayoría de los espectrómetros de absorción de llama. Consiste en una celda cilíndrica de unos 17 cm de longitud, con un orificio circular de unos 2 cm de diámetro cortado cerca de la mitad del cilindro. Una arandela rodea el orificio. La muestra se presiona contra este orificio con un tornillo para sellar el tubo. De unos diminutos inyectores, dispuestos en círculo sobre la muestra, salen seis finas corrientes de argón que inciden de forma hexagonal sobre la superficie de la muestra. El argón se ioniza por la corriente entre un ánodo, que mantiene los inyectores, y la muestra, que actúa como cátodo. Como consecuencia del chisporroteo, se forman rápidamente seis cráteres en la superficie de la muestra, como se observa en la Figura 9-8b. Los átomos proyectados son succionados por el vacío hacia el eje de la celda, donde absorben la radiación procedente de la fuente del espectrómetro⁵.

Para que esta técnica sea aplicable, la muestra debe ser un conductor eléctrico o puede mezclarse con un conductor en polvo, como grafito o cobre finamente molido (*pellet*). Las muestras en disolución también pueden analizarse por deposición sobre un cátodo de grafito, aluminio o cobre. Se han publicado límites de detección inferiores a partes por millón para muestras sólidas con este tipo de dispositivo.

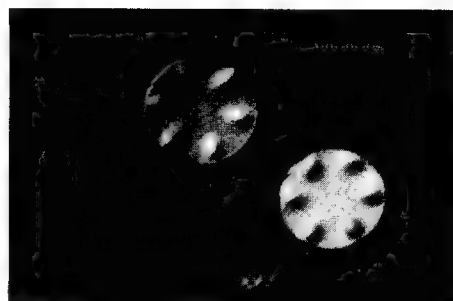
Generación de hidruros

En el Apartado 8C-1 (página 213) se consideraron los métodos para introducir muestras en disolución

⁵ Véase E. H. Piepmeyer en *Glow Discharge Spectroscopies*, páginas 69-71. R. K. Marcus, Ed. New York: Plenum Press, 1993.



(a)



(b)

Figura 9-8. (a) Sección transversal de una celda para atomización de muestras sólidas por descarga luminiscente. (b) Cráteres formados en la superficie de la muestra por seis chorros de argón ionizado. (Cortesía de Leeman Labs, Inc., Bedford, MA.)

mediante generación de hidruros. La atomización de los hidruros requiere únicamente que se calienten en un tubo de cuarzo, como se muestra en la Figura 9-9.

Atomización en vapor frío

La técnica de vapor frío es un método de atomización aplicable solamente a la determinación de mercurio, ya que es el único elemento metálico que tiene una presión de vapor apreciable a temperatura ambiente⁶. La determinación de mercurio en distintos tipos de muestras es de vital importancia actualmente, debido a la toxicidad de varios compuestos orgánicos de mercurio y su amplia distribución en el medio ambiente⁷. El método de elección para su análisis es la vaporización fría seguida de espectrofotometría de absorción atómica. En la realización de este tipo de análisis, el mercurio se convierte en Hg^{2+} por tratamiento de las muestras

⁶ Véase H. J. Lajunen, *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*, págs. 117-125. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1992.

⁷ Véase, por ejemplo, D. A. Skoog, D. M. West, y F. J. Holler, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 7.ª ed., págs. 624-631. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1996.

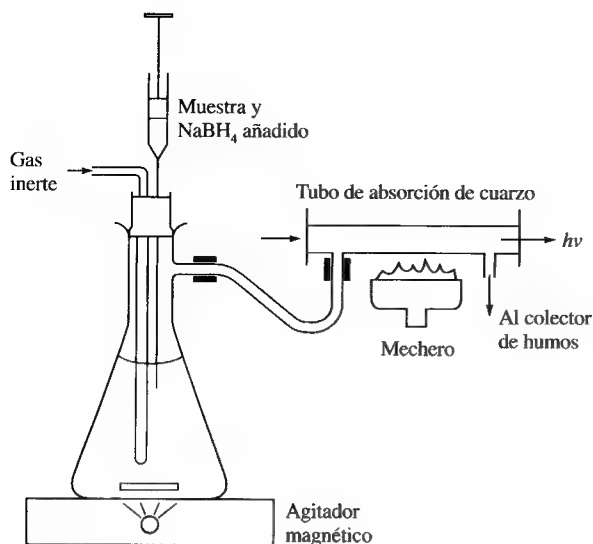


Figura 9-9. Sistema de generación de hidruros y atomización para espectrometría de absorción atómica.

con una mezcla oxidante de ácidos nítrico y sulfúrico seguido de reducción del Hg^{2+} al metal con SnCl_2 . El mercurio elemental es conducido entonces a un tubo de absorción de camino óptico largo burbujando una corriente de gas inerte a través de la mezcla a partir de la cual se formó el elemento. El análisis se completa midiendo la absorbancia a 253,7 nm. Se obtienen los límites de detección en un intervalo de las partes por billón. Varios fabricantes ofrecen instrumentos automáticos para realizar este análisis para varios tipos de muestras. (Véase el Apartado 33B-4.)

9B. INSTRUMENTACIÓN PARA ABSORCIÓN ATÓMICA⁸

Los instrumentos para espectrometría de absorción atómica (AAS) son semejantes al diseño general mostrado en la Figura 7-1a (página 152) y consiste

en una fuente de radiación, una zona de muestra, un selector de longitud de onda, un detector y un procesador de la señal y de la lectura de salida. La zona de muestra en los instrumentos de absorción atómica es el atomizador que contiene la muestra gaseosa atomizada.

9B-1. Fuentes de radiación

Los métodos analíticos basados en la absorción atómica son potencialmente muy específicos, ya que las líneas de absorción atómica son considerablemente estrechas (de 0,002 a 0,005 nm) y las energías de transición electrónica son únicas para cada elemento. Por otro lado, las limitadas anchuras de línea crean un problema que generalmente no se encuentra en la espectroscopia de absorción molecular. En el Apartado 13B-2, se demuestra que para que exista una relación lineal entre la señal analítica (absorbancia) y la concentración, es decir, que se cumpla la ley de Beer expresada según la Ecuación 6-34, es necesario que la anchura de banda de la fuente sea estrecha respecto a la anchura de un pico de absorción. Sin embargo, incluso los monocromadores de buena calidad tienen anchuras de banda efectivas que son significativamente mayores que la anchura de las líneas de absorción atómica. En consecuencia, al hacer medidas de absorbancia atómica utilizando un espectrofotómetro normal equipado con una fuente de radiación continua, inevitablemente se obtienen curvas de calibrado no lineales. Además, las pendientes de las curvas de calibrado obtenidas con dicho equipo son pequeñas, porque sólo una pequeña fracción de la radiación procedente de la rendija del monocromador es absorbida por la muestra; consecuentemente se obtienen sensibilidades bajas⁹.

El problema creado por la limitada anchura de los picos de absorción atómica se ha resuelto empleando fuentes de líneas con anchuras de banda aún más estrechas que los picos de absorción. Por ejemplo, si se elige la línea del sodio de 589,6 nm para el análisis de absorción de este elemento, se utiliza la radiación correspondiente a un pico de emisión del sodio a esta misma longitud de onda.

⁸ Entre los libros de referencia de espectroscopia de absorción atómica se incluyen: W. Slavin, *Atomic Absorption Spectroscopy*, 2.^a ed. New York: Interscience, 1978; B. Welz, *Atomic Absorption Spectroscopy*, 2.^a ed. Deerfield Beach, FL: VCH Publishers, 1985; L. H. J. Lajunen, *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*. Cambridge, U.K.: Royal Society of Chemistry, 1992; *Atomic Absorption Spectrometry*, J. E. Cantle, Ed. New York: Elsevier, 1982. Para una revisión resumida acerca del estado presente y futuro de la espectroscopia atómica, véase W. Slavin, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 1033A; **1986**, 58, 589A; véase también L. de Galan, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 697A.

⁹ Con buenos resultados se describe en una publicación el uso adecuado de una fuente continua para espectroscopia de absorción atómica, véase J. M. Harnly, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 933A.

En este caso, la línea se produce mediante una lámpara de vapor de sodio en la que los átomos de sodio se excitan con una descarga eléctrica. Las otras líneas del sodio emitidas por la fuente se eliminan con filtros o con un monocromador relativamente barato. Las condiciones de trabajo de la fuente se eligen de manera que el ensanchamiento por efecto Doppler de las líneas emitidas sea menor que el ensanchamiento del pico de absorción que tiene lugar en la llama o en otro atomizador. Es decir, la temperatura de la fuente se mantiene por debajo de la de la llama. La Figura 9-10 ilustra el fundamento de este procedimiento. La Figura 9-10a muestra el espectro de *emisión* de una fuente de lámpara atómica típica, que consiste en cuatro líneas estrechas. Con un filtro o monocromador adecuado, se eliminan todas las líneas excepto una. La Figura 9-10b muestra el espectro de absorción del analito entre las longitudes de onda λ_1 y λ_2 . Obsérvese que la

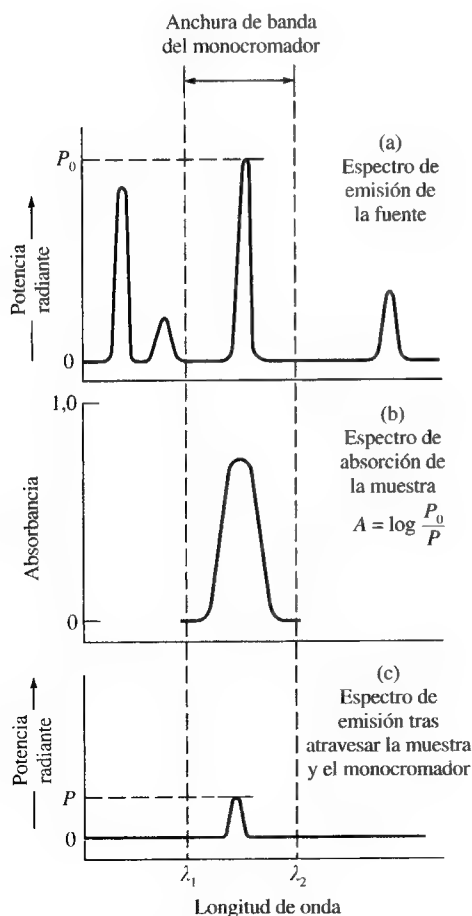


Figura 9-10. Absorción atómica de una línea de resonancia.

anchura de banda es significativamente mayor que la del pico de emisión. Como se refleja en la Figura 9-10c, al pasar la línea que proviene de la fuente a través de la llama se reduce su intensidad de P_0 a P ; la absorbancia viene dada por $\log(P_0/P)$, que se relaciona linealmente con la concentración del analito en la muestra.

Un inconveniente de esta técnica es la necesidad de una lámpara distinta para cada elemento (o a veces grupo de elementos).

Lámparas de cátodo hueco

La fuente más común para las medidas de absorción atómica es la *lámpara de cátodo hueco*, como la que se muestra en la Figura 9-11¹⁰. Este tipo de lámpara consiste en un ánodo de wolframio y un cátodo cilíndrico cerrados herméticamente en un tubo de vidrio lleno con neón o argón a una presión de 1 a 5 torr. El cátodo está construido con el metal cuyo espectro se desea obtener, o bien, sirve de soporte para una capa de dicho metal.

Cuando se aplica un potencial del orden de 300 V entre los electrodos se produce la ionización del gas inerte, lo que da lugar a una corriente de aproximadamente 5 a 15 mA al tiempo que los iones y electrones migran hacia los electrodos. Si el potencial es lo suficientemente grande, los cationes gaseosos adquieren la suficiente energía cinética como para arrancar algunos de los átomos metálicos de la superficie del cátodo y producir una nube atómica; a este proceso se le denomina *chisporroteo*. Una parte de los átomos metálicos desprendidos se encuentran en estado excitado y, de este modo, al volver al estado fundamental emiten su radiación característica. Al final, los átomos metálicos se vuelven a depositar difundiendo de nuevo hacia la superficie del cátodo o hacia las paredes de vidrio del tubo.

La configuración cilíndrica del cátodo tiende a concentrar la radiación en una región limitada del tubo metálico; este diseño aumenta también la probabilidad de que la redeposición sea en el cátodo más que sobre las paredes de vidrio.

La eficacia de la lámpara de cátodo hueco depende de su geometría y del potencial aplicado. Los potenciales elevados y, por consiguiente, las corrientes elevadas originan intensidades de radiación mayores. Esta ventaja se neutraliza en parte

¹⁰ Véase S. Caroli, *Improved Hollow Cathode Lamps for Atomic Spectroscopy*. New York: Wiley, 1985.

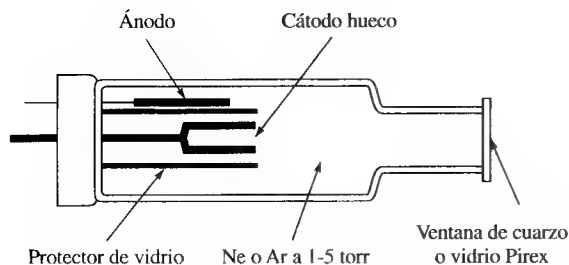


Figura 9-11. Sección transversal de una lámpara de cátodo hueco.

por un aumento del ensanchamiento por efecto Doppler de las líneas de emisión de la lámpara. Además, las corrientes mayores provocan un aumento del número de átomos no excitados en la nube. Los átomos no excitados, a su vez, son capaces de absorber la radiación emitida por los átomos excitados. Esta *autoabsorción* reduce la intensidad, sobre todo en el centro de la banda de emisión.

En el comercio existe una gran variedad de lámparas de cátodo hueco. En algunos casos los cátodos están constituidos por una mezcla de varios metales; lo que permite el análisis de más de un elemento.

Lámparas de descarga sin electrodos

Las lámparas de descarga sin electrodos (EDL) son fuentes de espectros atómicos de líneas muy utilizadas y, por lo general, producen intensidades radiantes que son uno o dos órdenes de magnitud superiores a las lámparas de cátodo hueco¹¹. Una lámpara típica está constituida por un tubo de cuarzo herméticamente cerrado que contiene un gas inerte, como el argón, a unos pocos torr y una pequeña cantidad del metal (o su sal) cuyo espectro se desea obtener. La lámpara no contiene electrodos, pero, en su lugar, para su activación se utiliza un campo intenso de radiofrecuencia o radiación de microondas. De esta forma, se produce la ionización del argón, originándose iones que son acelerados por la componente de radiofrecuencia del campo hasta que adquieren la suficiente energía para excitar a los átomos del metal cuyo espectro se desea.

Existen lámparas de descarga sin electrodos comercializadas para 15 o más elementos. Su funcionamiento no parece ser tan fiable como el de las lámparas de cátodo hueco. La Figura 9-12 muestra un esquema de una lámpara de descarga sin elec-

trodo comercial, que utiliza una fuente de radiofrecuencia de 27 MHz.

Modulación de la fuente

En un instrumento de absorción atómica típico es necesario eliminar las interferencias producidas por la emisión de radiación en la llama. La mayor parte de la radiación que se emite se elimina mediante el monocromador. Sin embargo, la radiación emitida correspondiente a la longitud de onda seleccionada por el monocromador está inevitablemente presente en la llama, debido a la excitación y emisión de los átomos del analito. A fin de eliminar los efectos de la emisión en la llama, es necesario modular la salida de la fuente para que su intensidad oscile a una frecuencia constante. De este modo, el detector recibe dos tipos de señal, una alternante de la fuente y otra continua que proviene de la llama. Estas señales se convierten en las correspondientes respuestas eléctricas. Para eliminar la señal de corriente continua no modulada y dejar pasar la señal de corriente alterna para su amplificación, se puede utilizar un simple filtro RC de paso alto (Apartado 2B-5).

Una forma sencilla y muy efectiva de modular la emisión de la fuente es interponer en el haz, entre la fuente y la llama, un disco metálico circular, o cortador, al que de forma alterna se le han eliminado cuadrantes para permitir el paso de luz. La rotación del disco a velocidad constante conocida proporciona un haz intermitente cortado a la frecuencia deseada. Como alternativa, el alimentador de la fuente puede diseñarse para funcionar con corriente alterna o de manera intermitente, para que la fuente se encienda y se apague a una frecuencia constante deseada.

9B-2. Espectrofotómetros

Muchos fabricantes ofrecen instrumentos de absorción atómica, los cuales están disponibles con diseños de haz sencillo y de doble haz. Las diferencias de complejidad y coste (por encima de algunos miles de dólares) son considerables.

En general, el instrumento debe ser capaz de proporcionar una anchura de banda lo suficientemente estrecha para que pueda aislar, para la medida, la línea elegida de las otras líneas que pueden interferir o disminuir la sensibilidad del análisis. Para algunos metales alcalinos es suficiente un fil-

¹¹ Véase W. B. Barnett, J. W. Vollmer y S. M. DeNuzzo, *At. Absorption Newsl.*, 1976, 15, 33.

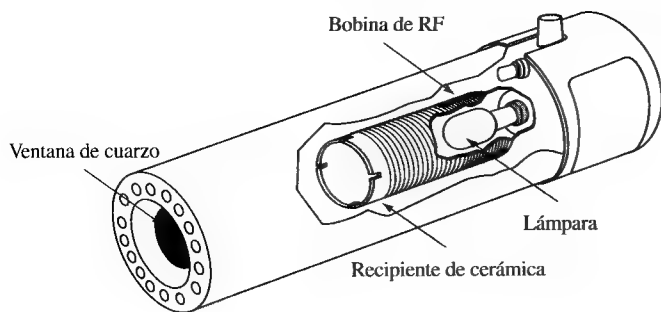


Figura 9-12. Sección de una lámpara de descarga sin electrodos. (De W. B. Barnett, J. W. Vollmer, y S. M. DeNuzzo, At. Absorption Newsletter, 1976, 15, 33. Con autorización.)

tro de vidrio, dado que tienen solamente unas pocas líneas de resonancia suficientemente espaciadas en la región visible. En el comercio se encuentran instrumentos equipados con filtros de interferencia fácilmente intercambiables. Para cada elemento se utiliza un filtro y una fuente de radiación distintos. Se obtienen resultados satisfactorios para el análisis de 22 metales. Sin embargo, la mayoría de los instrumentos utilizan monocromadores ultravioleta/visible de buena calidad, muchos de los cuales son capaces de conseguir una anchura de banda del orden de 1 Å.

La mayoría de los instrumentos de absorción atómica utilizan tubos fotomultiplicadores, que se han descrito en el Apartado 7E-2, como detectores. Tal como se ha subrayado anteriormente, se necesitan sistemas electrónicos que puedan discriminar entre la señal modulada de la fuente y la señal continua de la llama. La mayoría de los instrumentos que actualmente se comercializan están equipados con ordenadores que se utilizan para el control de los parámetros instrumentales y para el control y tratamiento de los datos.

Instrumentos de haz sencillo

Un instrumento característico de haz sencillo, como el que se muestra en la Figura 9-13a, consiste en varias fuentes de cátodo hueco (sólo se muestra una de ellas), un cortador o una fuente de alimentación de impulsos, un atomizador y un espectrofotómetro sencillo de red de difracción con un fotomultiplicador como detector. Se utiliza de la misma forma que se describe en la página 148. Así, la corriente oscura se anula con un obturador enfrente del detector. A continuación se hace el ajuste del 100 por 100 T con un blanco que se aspira en la llama o que se quema en un atomizador sin llama. Finalmente, se obtiene la transmitancia reemplazando el blanco por la muestra.

Instrumentos de doble haz

La Figura 9-13b muestra un esquema de un típico instrumento de doble haz. El haz que proviene de la fuente de cátodo hueco se divide mediante un cortador reflectante, una mitad pasa a través de la llama y la otra mitad fuera de ella. Los dos haces se juntan mediante un espejo semiplatedado y llegan a un monocromador de red Czerny-Turner; un tubo fotomultiplicador actúa como detector. La salida de éste se utiliza para alimentar un amplificador de cierre sincronizado con el movimiento del cortador. Se amplifica entonces la relación entre las señales de la referencia y de la muestra, y pasan al sistema de tratamiento de datos, que puede ser un medidor digital o un registrador de señal.

Hay que resaltar que en los instrumentos de absorción atómica de doble haz, el haz de referencia no pasa a través de la llama, y, por consiguiente, no existe una corrección de la pérdida de potencia radiante debida a la absorción o dispersión de la radiación por la propia llama. En el apartado siguiente se explican los métodos para corregir estas pérdidas.

9C. INTERFERENCIAS EN ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

En los métodos de absorción atómica se presentan dos tipos de interferencias. Las *interferencias espectrales* se producen cuando la absorción o emisión de una especie interferente se solapa o aparece muy próxima a la absorción o emisión del analito, de modo que su resolución por el monocromador resulta imposible. Las *interferencias químicas* se producen como consecuencia de diversos procesos químicos que ocurren durante la atomización y que alteran las características de absorción del analito.

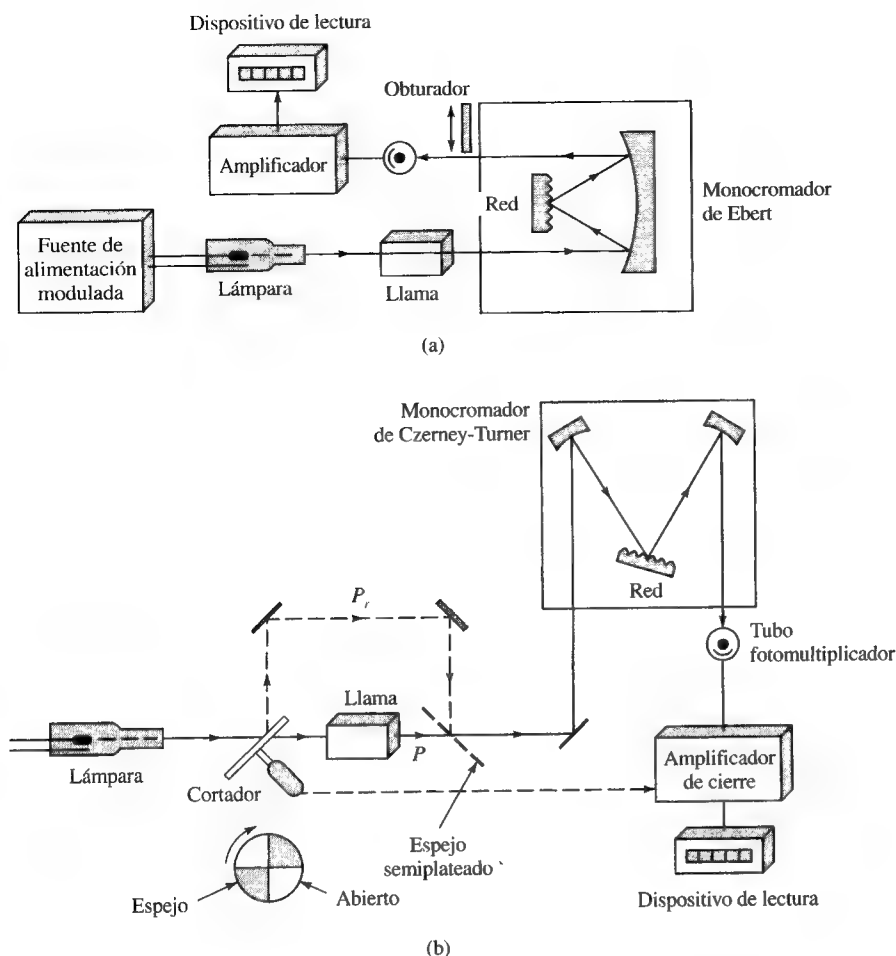


Figura 9-13. Espectrofotómetros de llama típicos: (a) diseño de haz sencillo y (b) diseño de doble haz.

9C-1. Interferencias espectrales

Dado que las líneas de emisión de las fuentes de cátodo hueco son muy estrechas, es rara la interferencia debida a la superposición de las líneas. Para que exista esta interferencia, la separación entre las dos líneas tendría que ser menor de aproximadamente $0,1 \text{ \AA}$.

Por ejemplo, la línea del vanadio a $3.082,11 \text{ \AA}$ interfiere en los análisis en que está involucrada la línea de absorción del aluminio a $3.082,15 \text{ \AA}$. Sin embargo, esta interferencia se evita fácilmente utilizando la línea del aluminio a $3.092,7 \text{ \AA}$ en lugar de aquella.

Las interferencias espectrales también se producen debido a la presencia de productos de combustión, que poseen bandas de absorción anchas, o de productos en forma de partículas, que dispersan la radiación. Ambos disminuyen la potencia del haz transmitido y dan lugar a errores analíticos po-

sitivos. Cuando la procedencia de estos productos es la mezcla de combustible y oxidante, se puede realizar fácilmente la corrección midiendo la absorbancia de un blanco. Obsérvese que esta corrección es necesaria tanto en los instrumentos de haz sencillo como en los de doble haz, ya que en estos últimos el haz de referencia no pasa a través de la llama (véase Fig. 9-13b).

Cuando la absorción o dispersión se debe a la matriz de la muestra, entonces el problema es más complicado. En este caso, la potencia del haz transmitido, P , se reduce por la presencia de los componentes de la matriz, mientras que la potencia del haz incidente, P_i , no resulta afectada; por ello, se produce un error positivo en la absorbancia y, por consiguiente, en la concentración. Un ejemplo de una posible interferencia de matriz debida a la absorción se produce en la determinación de bario en mezclas de elementos alcalinotérreos. Como se observa por la línea de trazos de la Figura 8-8, la lon-

gitud de onda de la línea del bario utilizada para su análisis por absorción atómica aparece en el centro de una banda ancha de absorción correspondiente al CaOH; en estas condiciones, es evidente que se ha de esperar la interferencia del calcio en el análisis del bario. En este caso en particular, se elimina fácilmente la interferencia sustituyendo el aire por óxido nítrico como oxidante, que produce una llama de mayor temperatura capaz de descomponer el CaOH y eliminar la banda de absorción.

La interferencia espectral debida a la dispersión por los productos de la atomización se produce más frecuentemente cuando se aspiran en la llama disoluciones concentradas que contienen elementos, tales como Ti, Zr y W, que forman óxidos refractarios. En estos casos se forman partículas de óxidos metálicos, cuyos diámetros son mayores que la longitud de onda de la luz, lo que origina una dispersión del haz incidente.

La interferencia debida a la dispersión también puede ser un problema cuando la muestra contiene especies orgánicas o cuando se utilizan disolventes orgánicos para disolver la muestra. En este caso, la combustión incompleta de la matriz orgánica deja partículas carbonosas que son capaces de dispersar la luz.

Afortunadamente, en la atomización con llama, las interferencias espectrales que provienen de los componentes de la matriz no siempre se producen, y con frecuencia se pueden evitar modificando los parámetros analíticos, como la temperatura y la relación combustible/oxidante. De una forma alternativa, si se conoce la causa de la interferencia, se puede añadir un exceso de la sustancia interferente tanto a la muestra como a los patrones. Si el exceso añadido a la muestra patrón es grande con respecto a su concentración en la matriz de la muestra, la contribución de esta última será insignificante. La sustancia añadida se denomina a veces *amortiguador de radiación*.

Hace algún tiempo, el problema de la interferencia de matriz en la atomización electrotérmica era importante. Actualmente, con los recientes progresos en la tecnología de la plataforma, los nuevos materiales de grafito de alta calidad, la instrumentación fotométrica rápida y la corrección Zeeman del fondo se consigue reducir este tipo de interferencias al nivel que se encuentra en las llamas¹². Para corregir las interferencias espectrales debidas

a los componentes de la matriz se han desarrollado varios métodos¹³.

Método de corrección de las dos líneas

El procedimiento de corrección de las dos líneas utiliza una línea que proviene de la fuente de radiación como referencia. Esta línea debería estar lo más próxima posible a la línea del analito, pero *no debe ser absorbida por éste*. Si se reúnen estas condiciones, se supone que cualquier disminución en la potencia de la línea de referencia respecto a lo observado durante la calibración se debe a la absorción o dispersión por los componentes de la matriz de la muestra. Esta disminución en la potencia se utiliza para corregir la absorbancia de la línea del analito.

La línea de referencia puede deberse a una impureza en el cátodo de la lámpara, a una línea del neón o argón que contiene la lámpara, o a una línea de emisión no resonante del elemento que se analiza. Lamentablemente, no siempre se dispone de una línea de referencia adecuada.

Método de corrección con una fuente continua

La Figura 9-14 ilustra un segundo método ampliamente utilizado para corregir el fondo. En esta técnica, se utiliza una lámpara de deuterio como fuente de radiación continua en toda la región ultravioleta. La configuración del cortador se modifica para que la radiación de la fuente continua y la de la lámpara de cátodo hueco pasen alternadamente a través del atomizador de tubo de grafito. La absorbancia de la radiación de deuterio se resta entonces de la del haz del analito. La anchura de rendija se ajusta con un ancho suficiente para que la fracción de radiación de la fuente continua que se absorbe por los átomos de la muestra sea despreciable. Por tanto, la atenuación de la potencia de la radiación continua durante el paso a través de la muestra atomizada indica solamente la absorción de banda ancha o la dispersión producida por los componentes de la matriz de la muestra. De esta forma se consigue una corrección del fondo.

Desafortunadamente, aunque la mayoría de los fabricantes de instrumentos ofrecen sistemas con fuente continua para la corrección del fondo, su funcionamiento es a menudo imperfecto, originan-

¹³ Para una explicación detallada de los distintos métodos para la corrección del fondo, véase A. T. Zander, *Amer. Lab.*, **1976**, (11), 11; J. J. Sotera y H. L. Kahn, *Amer. Lab.*, **1982**, (11), 100.

¹² Véase W. Slavin, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 590A.

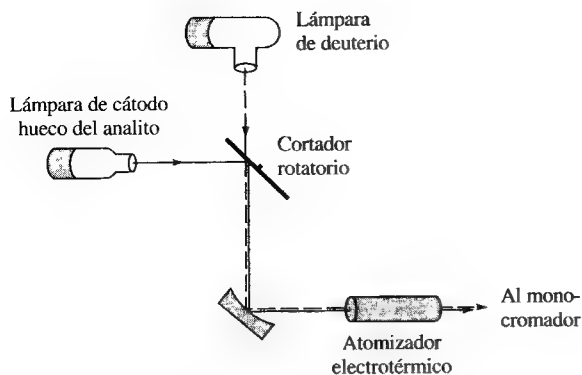


Figura 9-14. Esquema de un sistema de corrección de fondo basado en una fuente continua. Obsérvese que puede prescindirse del cortador encendiendo alternativamente cada lámpara.

do en algunos casos correcciones por defecto y en otros por exceso. Una de las fuentes de error es la inevitable degradación de la relación señal/ruido que acompaña al uso adicional de una lámpara y un cortador. Además, los medios gaseosos a elevada temperatura son, por lo general, muy poco homogéneos, tanto en su composición química como en la distribución de sus partículas; por ello, si las dos lámparas no se alinean perfectamente, se realizará una corrección errónea, que puede dar lugar a errores positivos o negativos. Finalmente, la salida de una lámpara de deuterio en la región visible es lo suficientemente baja como para impedir el uso de este procedimiento de corrección para longitudes de onda mayores de aproximadamente 350 nm.

Corrección del fondo basada en el efecto Zeeman¹⁴

Cuando un vapor atómico se expone a un intenso campo magnético (≈ 10 kG), se produce un desdoblamiento de los niveles de energía electrónicos de los átomos, lo que conduce a la formación de diversas líneas de absorción para cada transición electrónica. Estas líneas están separadas unas de otras en unos 0,01 nm, siendo la suma de las absorbancias de estas líneas exactamente igual a la de la línea de la cual proceden. Este fenómeno, común para todos los espectros atómicos, se denomina *efecto Zeeman*. En función del tipo de transición electrónica implicado en el proceso de absorción,

existen diversos modelos de desdoblamiento. El modelo más sencillo, que se observa con transiciones singulete (página 205), conduce a una línea central o línea π y a dos líneas satélite σ igualmente espaciadas. La línea central, que coincide con la longitud de onda original, tiene una absorbancia doble que la de cada línea σ . En transiciones más complejas, se producen desdoblamientos adicionales de las líneas π y σ .

La aplicación del efecto Zeeman en los instrumentos de absorción atómica se basa en la distinta respuesta a la radiación polarizada de los dos tipos de picos de absorción. El pico π absorbe solamente la radiación que está polarizada en un plano paralelo al campo magnético externo; por el contrario, los picos σ sólo absorben la radiación polarizada a 90 grados respecto al campo.

La Figura 9-15 muestra el detalle de un instrumento de absorción atómica electrotérmico, que utiliza el efecto Zeeman para la corrección del fondo. La radiación no polarizada de una fuente de cátodo hueco ordinaria *A* pasa a través de un polarizador rotatorio *B*, que separa el haz en dos componentes polarizados en planos a 90 grados uno del otro *C*. Estos haces pasan por un horno de grafito similar al mostrado en la Figura 9-6a. Un imán permanente de 11 kG rodea el horno y desdobra los niveles de energía originando los tres picos de absorción que se indican en *D*. Obsérvese que el pico central sólo absorbe la radiación polarizada en el plano del campo. De este modo, durante la parte del ciclo en que la radiación de la fuente está polarizada de la misma forma, se produce la absorción de radiación por el analito. En la otra mitad del ciclo, el analito no absorbe radiación. Sin embargo, en ambos ciclos tiene lugar la absorción molecular de banda ancha y la dispersión por los productos de la matriz y, así, se produce un modelo de absorbancia cíclico como el indicado en *F*. El sistema de tratamiento de datos se programa para restar la absorbancia correspondiente a la parte perpendicular del ciclo de la que se produce en la parte paralela del ciclo, y, de este modo, se obtiene un valor corregido del fondo.

Existe un segundo tipo de instrumento que utiliza el efecto Zeeman, en el que un imán rodea la fuente de cátodo hueco. En este caso, se desdobra el espectro de *emisión* de la fuente en lugar del espectro de absorción de la muestra. Esta configuración de instrumento proporciona una corrección análoga. Hasta la fecha, la mayoría de los instrumentos son del tipo mostrado en la Figura 9-15.

¹⁴ Para una explicación detallada sobre la aplicación del efecto Zeeman a la absorción atómica, véase S. D. Brown, *Anal. Chem.*, **1977**, 49 (14), 1269A; F. J. Fernández, S. A. Myers y W. Slavin, *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 741.

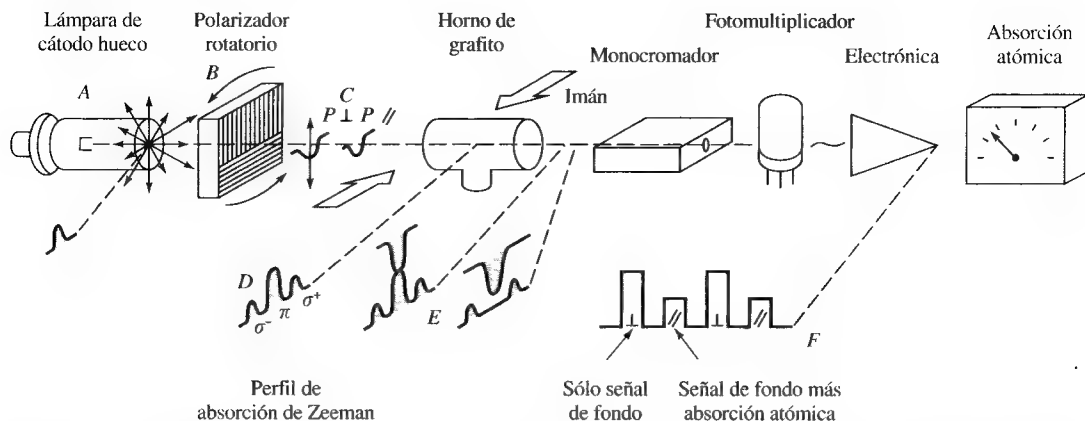


Figura 9-15. Esquema de un instrumento de absorción atómica electrotrémico que permite una corrección del fondo basada en el efecto Zeeman. (Cortesía de Hitachi Scientific Instruments, Mountain View, CA.)

Los instrumentos con efecto Zeeman permiten una corrección más exacta del fondo que los métodos descritos anteriormente. Estos instrumentos son especialmente útiles en atomizadores electrotrémicos y permiten la determinación directa de elementos en muestras como orina y sangre. En estas muestras la descomposición de la materia orgánica conduce a grandes correcciones del fondo (A de fondo ≥ 1) y, por consiguiente, a la posibilidad de errores significativos.

Corrección del fondo basada en una fuente con autoinversión

En la actualidad, se está comercializando una forma extraordinariamente simple de corrección del fondo, que parece ofrecer la mayoría de las ventajas de los instrumentos con efecto Zeeman¹⁵. Este método, que se denomina a veces el *método Smith-Hieftje de corrección del fondo*, se basa en la autoinversión o autoabsorción, comportamiento de la radiación que emiten las lámparas de cátodo hueco cuando se les aplican corrientes elevadas. Tal como se ha mencionado anteriormente, las corrientes elevadas producen una gran concentración de átomos no excitados, los cuales son capaces de absorber la radiación emitida por las especies excitadas. Un efecto adicional de las corrientes elevadas es el gran ensanchamiento que originan en las bandas de emisión de las especies excitadas. El efecto neto produce una banda con un mínimo en su centro, que corresponde exactamente a la

longitud de onda del pico de absorción (véase Figura 9-16).

A fin de obtener absorbancias corregidas, se programa la lámpara para funcionar alternadamente con bajas y altas corrientes. La absorbancia total se obtiene cuando se opera a bajas corrientes, y la absorbancia debida al fondo resulta de las medidas en la segunda parte del ciclo, cuando la radiación en el pico de absorción está en un mínimo. El sistema de tratamiento de datos resta entonces la absorbancia del fondo de la total para obtener un valor corregido. La recuperación de la fuente, cuando la corriente disminuye, se produce en milisegundos. El ciclo de medida puede llevarse a cabo repetidamente para obtener relaciones señal/ruido satisfactorias. En el comercio se encuentran instrumentos equipados para este tipo de corrección.

9C-2. Interferencias químicas

Las interferencias químicas son más comunes que las espectrales. Frecuentemente sus efectos pueden minimizarse escogiendo las condiciones de trabajo adecuadas.

Existen evidencias teóricas y experimentales que indican que muchos de los procesos que suceden en el seno de la llama están próximos al equilibrio. Consecuentemente, es posible considerar a los gases que se queman como un medio disolvente, al que se puede aplicar cálculos termodinámicos. Los equilibrios de mayor interés son la formación de compuestos de baja volatilidad, las reacciones de disociación y las de ionización.

¹⁵ Véase S. B. Smith Jr. y G. M. Hieftje, *Appl. Spectrosc.*, **1983**, 37, 419; *Science*, **1983**, 220, 183.

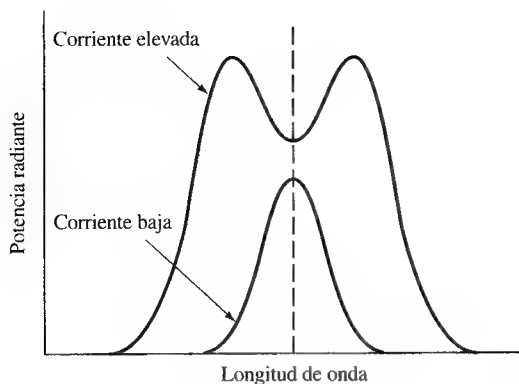


Figura 9-16. Perfiles de líneas de emisión de una lámpara de cátodo hueco que funciona a altas y bajas corrientes.

Formación de compuestos poco volátiles

El tipo más común de interferencia es probablemente el producido por aniones que forman compuestos de baja volatilidad con el analito y reducen así su velocidad de atomización; lo que origina resultados menores que los esperados. Como ejemplo puede citarse la disminución de la absorbancia del calcio observada a medida que aumenta la concentración de sulfato o fosfato. Por ejemplo, para una concentración fija de calcio, la absorbancia disminuye de forma casi lineal con el aumento de las concentraciones de sulfato o fosfato hasta que la relación anión/calcio es de aproximadamente 0,5; en estas condiciones la absorbancia es aproximadamente del 30 al 50 por 100 de su valor original y se hace independiente de la concentración del anión.

También se han encontrado ejemplos de interferencias de cationes. Así, el aluminio hace disminuir los resultados en la determinación de magnesio, aparentemente como consecuencia de la formación de un compuesto termoestable de aluminio y magnesio (quizás un óxido).

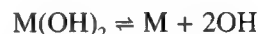
En muchas ocasiones pueden eliminarse o atenuarse las interferencias debidas a la formación de especies poco volátiles aumentando la temperatura. También se pueden emplear *agentes liberadores*, que son cationes que reaccionan preferentemente con el interferente e impiden su interacción con el analito. Por ejemplo, la adición de un exceso de iones estroncio o lantano minimiza la interferencia del fosfato en la determinación del calcio. Estas mismas especies químicas se han utilizado también como agentes liberadores para la determi-

nación del magnesio en presencia de aluminio. En ambos casos, el estroncio o el lantano reemplazan al analito en los compuestos que forma con la especie interferente.

Los *agentes protectores* impiden las interferencias formando con el analito especies estables volátiles. Existen tres reactivos que por lo general se utilizan con este fin, son el EDTA, la 8-hidroxiquinolina y el APDC (la sal de amonio del ácido 1-pirrolidinacarboditióico). Se ha demostrado que la presencia del EDTA elimina las interferencias del aluminio, silicio, fosfato y sulfato en la determinación del calcio. De manera semejante, la 8-hidroxiquinolina elimina la interferencia del aluminio en la determinación del calcio y del magnesio.

Equilibrios de disociación

En el medio gaseoso y caliente de una llama o de un horno, numerosas reacciones de disociación y asociación provocan la conversión de los constituyentes metálicos a su estado elemental. Parece probable que al menos algunas de estas reacciones sean reversibles y que se les pueda aplicar las leyes de la termodinámica. En consecuencia debería ser posible formular equilibrios como



donde M representa los átomos del analito.

En la práctica, no se conoce lo suficiente sobre la naturaleza de las reacciones químicas que suceden en la llama como para realizar un tratamiento cuantitativo similar al que se hace en disolución acuosa. En su lugar, debe confiarse en las observaciones empíricas.

Las reacciones de disociación en las que intervienen óxidos e hidróxidos metálicos juegan un papel importante en la determinación de la naturaleza de los espectros de emisión o absorción de un elemento. Por ejemplo, los óxidos de los elementos alcalinotérreos son relativamente estables, con energías de disociación mayores de 5 eV. Las bandas moleculares que se producen por la presencia de óxidos o hidróxidos metálicos en la llama constituyen una característica importante de sus espectros (véase Fig. 8-8). Excepto a temperaturas muy altas, estas bandas son más intensas que las líneas de los átomos o iones. Por el contrario, los óxidos e hidróxidos de los metales alcalinos se disocian mucho más fácilmente, por lo que las intensidades de

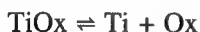
las líneas de estos elementos son elevadas, incluso a temperaturas relativamente bajas.

Parece probable que los equilibrios de disociación en los que intervienen aniones distintos del oxígeno puedan tener también influencia en la absorción y emisión de llama. Por ejemplo, la intensidad de la línea del sodio se reduce notablemente por la presencia de HCl. Una posible explicación es el efecto de acción de masas sobre el equilibrio



Los átomos de cloro que se forman a partir del HCl añadido disminuyen la concentración de átomos de sodio y, por tanto, la intensidad de la línea.

Otro ejemplo de este tipo de interferencia consiste en el aumento de la absorción por el vanadio en presencia de aluminio o titanio. La interferencia es mucho más intensa en las llamas ricas en combustible que en las pobres. Estos efectos se explican fácilmente, si se supone que los tres metales interaccionan con especies como el O y el OH, que siempre están presentes en las llamas. Si las especies que contienen oxígeno se representan como Ox, se pueden postular una serie de reacciones de equilibrio. Así,



En las mezclas de combustión ricas en combustible, la concentración de Ox es lo suficientemente pequeña como para que su concentración disminuya de forma notable cuando la muestra contiene aluminio o titanio. Esta disminución hace que el primer equilibrio se desplace hacia la derecha, con el consiguiente aumento de la concentración de metal, así como de la absorbancia. Por otra parte, en mezclas pobres en combustible, la concentración de Ox es al parecer más alta respecto a la concentración total de átomos metálicos. Por tanto, la adición de aluminio o titanio apenas cambia la concentración de Ox. Por tanto, la posición del primer equilibrio no se altera significativamente.

Equilibrios de ionización

En las mezclas de combustión que contienen aire como oxidante, la ionización de los átomos y moléculas es pequeña y, por lo general, puede despre-

ciarse. Sin embargo, en las llamas de temperaturas más elevadas en las que el oxidante es el oxígeno o el óxido nitroso, la ionización es más importante, y hay una concentración notable de electrones libres como consecuencia del equilibrio



donde M representa a un átomo o molécula neutros y M⁺ a su ion. Se consideran fundamentalmente los equilibrios en los que M es un átomo metálico.

La constante de equilibrio *K* de esta reacción adopta la forma

$$K = \frac{[\text{M}^+][\text{e}^-]}{[\text{M}]} \quad (9-2)$$

Si en la llama no hay otra fuente de electrones presente, esta ecuación puede escribirse en la forma

$$K = \left(\frac{\alpha^2}{1 - \alpha} \right) p$$

donde α es la fracción de M que está ionizada y *p* es la presión parcial del metal en el disolvente gaseoso antes de la ionización.

En la Tabla 9-2 se indica el grado de ionización calculado para varios metales comunes en condiciones que se aproximan a las que se utilizan en la espectroscopia de emisión de llama. Las temperaturas corresponden aproximadamente a las condiciones que se dan en llamas de aire/acetileno y de oxígeno/acetileno, respectivamente.

Es importante considerar que el tratamiento del proceso de ionización como un equilibrio —con electrones libres como uno de los productos— implica necesariamente que el grado de ionización de un metal esté fuertemente influido por la presencia en la llama de otros metales ionizables. Así, si en el medio está presente no sólo la especie M, sino también la especie B, y si B se ioniza según la ecuación



entonces el grado de ionización de M se reducirá por el efecto de la acción de masas de los electrones formados a partir de B. La determinación del grado de ionización en estas condiciones permite el cálculo relacionando la constante de disociación para B y la expresión del balance de masas

$$[\text{e}^-] = [\text{B}^+] + [\text{M}^+]$$

TABLA 9-2. Grado de ionización de metales a distintas temperaturas de llama*

Elemento	Potencial de ionización, eV	Fracción ionizada a la presión y temperatura indicadas			
		$p = 10^{-4}$ atm		$p = 10^{-6}$ atm	
		2.000 K	3.500 K	2.000 K	3.500 K
Cs	3,893	0,01	0,86	0,11	>0,99
Rb	4,176	0,004	0,74	0,04	>0,99
K	4,339	0,003	0,66	0,03	0,99
Na	5,138	0,0003	0,26	0,003	0,90
Li	5,390	0,0001	0,18	0,001	0,82
Ba	5,210	0,0006	0,41	0,006	0,95
Sr	5,692	0,0001	0,21	0,001	0,87
Ca	6,111	3×10^{-5}	0,11	0,0003	0,67
Mg	7,644	4×10^{-7}	0,01	4×10^{-6}	0,09

* Datos de B. L. Vallee y R. E. Thiers, en *Treatise on Analytical Chemistry*, I. M. Kolthoff y P. J. Elving, Eds., Parte I, Vol. 6, pág. 3500. New York: Interscience, 1965. Reproducción autorizada por John Wiley & Sons, Inc.

La presencia de equilibrios entre iones y átomos en las llamas tiene algunas consecuencias importantes en la espectroscopia de llama. Por ejemplo, la intensidad de las líneas de absorción o emisión atómicas de los metales alcalinos, en particular del potasio, rubidio y cesio, está afectada de forma compleja por la temperatura. Las temperaturas elevadas provocan un aumento de la población de átomos excitados, de acuerdo con la ecuación de Boltzmann (Ecuación 8-1). Sin embargo, contrarrestando este efecto, hay una disminución de la concentración de átomos como resultado de la ionización. Por tanto, en determinadas circunstancias, en las llamas más caloríficas se puede observar una disminución de la absorción o emisión. Por esta razón, suelen utilizarse temperaturas de excitación más bajas para el análisis de los metales alcalinos.

Los efectos de los desplazamientos de los equilibrios de ionización con frecuencia se pueden eliminar con la adición de un *supresor de ionización*, el cual proporciona una concentración relativamente alta de electrones en la llama; como consecuencia se suprime la ionización del analito. El efecto de un supresor se demuestra en las curvas de calibrado del estroncio que se representan en la Figura 9-17. Obsérvese el aumento notable de la pendiente de estas curvas a medida que se anula la ionización del estroncio por el aumento de la concentración de iones potasio y de electrones. Es de subrayar, también, el aumento de la sensibilidad que se obtiene cuando se utiliza como oxidante óxido nitroso en lugar de aire; la mayor temperatu-

ra que se alcanza con el óxido nitroso, aumenta indudablemente la velocidad de descomposición y de volatilización de los compuestos de estroncio en el plasma.

9D. TÉCNICAS ANALÍTICAS DE ABSORCIÓN ATÓMICA

Este apartado trata de algunos de los detalles prácticos que deben considerarse al realizar un análisis por absorción atómica de llama o electrotérmica.

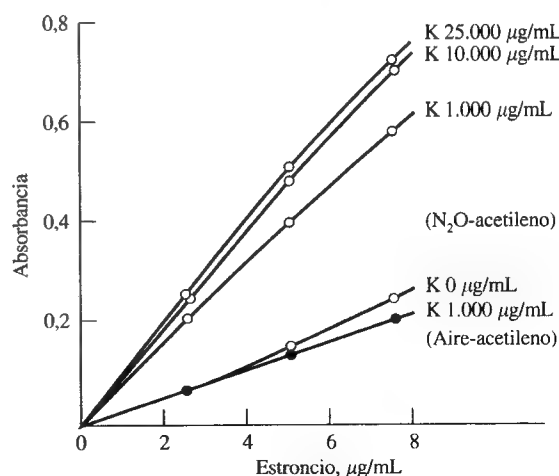


Figura 9-17. Efecto de la concentración de potasio sobre la curva de calibrado del estroncio. (Reproducción autorizada de J. A. Bowman y J. B. Willis, *Anal. Chem.*, 1967, 39, 1220. Copyright 1967 American Chemical Society.)

9D-1. Preparación de la muestra

Una desventaja de los métodos espectroscópicos de llama es el requisito de que la muestra se ha de introducir en la fuente de excitación disuelta, por lo general en agua. Desafortunadamente, muchos materiales de interés, tales como suelos, tejidos animales, plantas, derivados del petróleo y minerales, no son directamente solubles en los disolventes habituales, y con frecuencia requieren un tratamiento previo laborioso para obtener una disolución del analito adecuada para la atomización. De hecho, las etapas de descomposición y disolución a menudo consumen más tiempo e introducen más errores que la propia medida espectroscópica.

La descomposición de materiales como los citados requiere por lo general tratamientos drásticos de la muestra a altas temperaturas con la consiguiente pérdida potencial de analito por volatilización o en forma de aerosoles en el humo. Además, los reactivos utilizados en la descomposición de la muestra, con frecuencia introducen los tipos de interferentes químicos y espectrales que se han discutido anteriormente. Además, el analito puede estar presente en estos reactivos como una impureza. De hecho, si no se tiene mucho cuidado, no es extraño encontrar en el análisis de trazas que los reactivos introduzcan más elementos de interés que las propias muestras —una situación que puede conducir a serios errores incluso con correcciones del blanco.

Alguno de los métodos más habituales para la descomposición y disolución de las muestras en los métodos de absorción atómica son: tratamiento con ácidos minerales en caliente; oxidación con reactivos líquidos como ácidos sulfúrico, nítrico o perclórico (*digestión húmeda*); combustión en una bomba de oxígeno o en otro recipiente para evitar pérdidas del analito; digestión a elevada temperatura; fusión a elevada temperatura con reactivos como óxido bórico, carbonato sódico, peróxido sódico o piro sulfato potásico¹⁶.

Una de las ventajas de la atomización electro-térmica es que algunos materiales pueden atomizarse directamente evitando de esta manera la etapa de la disolución. Por ejemplo, las muestras líquidas como sangre, derivados del petróleo y disolventes orgánicos pueden pipetarse y transferirse directamente al horno para su calcinación y ato-

mización. Las muestras sólidas, como hojas de plantas, tejidos animales o algunas sustancias inorgánicas, pueden pesarse directamente en atomizadores tipo cubeta o en navéculas de tántalo para su introducción en hornos tipo tubo. Sin embargo, por regla general, la calibración es difícil y requiere de patrones que se aproximen a la composición de la muestra.

9D-2. Disolventes orgánicos

Desde los primeros tiempos de desarrollo de la espectroscopia de absorción atómica, se puso de manifiesto que se podían obtener mayores picos de absorción a partir de disoluciones que contenían alcoholes de bajo peso molecular, ésteres o cetonas. El efecto de los disolventes orgánicos se atribuye mayoritariamente a que mejoran la eficacia de la nebulización; la menor tensión superficial de estas disoluciones produce gotas de menor tamaño y, por tanto, se produce un aumento en la cantidad de la muestra que llega a la llama. Además, la mayor velocidad de evaporación del disolvente también puede contribuir a este efecto. Deben emplearse llamas con una relación combustible/oxidante más baja para compensar la presencia de la sustancia orgánica añadida. Lamentablemente, sin embargo, las mezclas más pobres en combustible producen llamas de temperatura menor y aumentan la posibilidad de interferencias químicas.

La aplicación analítica más importante de los disolventes orgánicos en la espectroscopia de llama es la utilización de disolventes inmiscibles, como la metil isobutil cetona, para extraer quelatos de iones metálicos. El extracto obtenido se nebuliza directamente en la llama. En este caso, la sensibilidad aumenta no sólo por el incremento de los picos de absorción debido al disolvente, sino también por el hecho de que en muchos casos, bastan pequeños volúmenes de disolvente orgánico para extraer cuantitativamente los iones metálicos de volúmenes relativamente grandes de disoluciones acuosas. Este procedimiento tiene la ventaja añadida de que, al menos, parte de los componentes de la matriz probablemente se quedan en el disolvente acuoso, lo que produce a menudo una reducción de las interferencias. Entre los agentes formadores de quelatos más habituales se encuentran el pirrolidinditiocarbamato amónico, la difeniltiocarbazona (ditizona), la 8-hidroxiquinolina y la acetilacetona.

¹⁶ R. Bock, A. *Handbook of Decomposition Methods in Analytical Chemistry*. New York: Wiley, 1979.

9D-3. Curvas de calibrado

En teoría, la absorción atómica debería cumplir la ley de Beer (Ecuación 6-34), siendo la absorbancia directamente proporcional a la concentración. Sin embargo, de hecho se encuentran con frecuencia desviaciones de la linealidad, y es arriesgado realizar un análisis por absorción atómica sin determinar experimentalmente si existe o no una relación lineal. Por consiguiente, se debería preparar periódicamente una curva de calibrado que cubra el intervalo de concentraciones correspondiente a la muestra. Además, en la atomización y en la medida de la absorbancia existen un gran número de variables incontrolables que justifican la medida de una disolución patrón cada vez que se realiza un análisis (incluso mejor si se utilizan dos patrones cubriendo un intervalo de concentraciones que englobe a la concentración del analito). Cualquier desviación del patrón respecto a la curva de calibrado original puede utilizarse para corregir el resultado analítico.

9D-4. Método de la adición estándar

El método de la adición estándar, que se ha descrito en el Apartado 1E-2, se utiliza ampliamente en espectroscopia de absorción atómica con objeto de contrarrestar parcialmente o por completo las interferencias químicas y espectrales introducidas por la matriz de la muestra.

9D-5. Aplicaciones de la espectrometría de absorción atómica

La espectrometría de absorción atómica constituye un medio sensible para la determinación cuantitativa de más de 60 elementos metálicos o metaloides. Las líneas de resonancia de los elementos no metálicos se localizan en general por debajo de los 200 nm, y sólo es posible su determinación con espectrofotómetros que operan en vacío.

Límites de detección

Las columnas dos y tres de la Tabla 9-3 indican los límites de detección por absorción atómica de llama y electrotérmica para algunos de los elementos más comunes. A fin de comparar, también se incluyen los límites de detección para otros proce-

dimientos atómicos. Las pequeñas diferencias entre los valores citados no son significativas. Así, mientras que un orden de magnitud probablemente sea significativo, un factor de 2 o de 3 seguro que no lo es.

Para muchos elementos, los límites de detección en espectroscopia de absorción atómica de atomización con llama se encuentran en el intervalo de 1 a 20 ng/mL o 0,001 a 0,020 ppm; con atomización electrotérmica los valores correspondientes son 0,002 a 0,01 ng/mL o 2×10^{-6} a 1×10^{-5} ppm. En algunos casos se hallan límites de detección muy alejados de estos intervalos.

Exactitud

En condiciones normales, el error relativo asociado con el análisis de absorción con llama es del orden del 1 al 2 por 100. Cuando se toman precauciones especiales, esta cifra se puede reducir a unas pocas décimas por cien. Por lo general, los errores que se obtienen con la atomización electrotérmica son de 5 a 10 veces mayores que los de la atomización con llama.

9E. ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA ATÓMICA

Desde 1964 aproximadamente, se han llevado a cabo una gran cantidad de trabajos de investigación con objeto de desarrollar métodos analíticos basados en la fluorescencia atómica¹⁷. Estos trabajos han demostrado que esta técnica es adecuada y útil para la determinación cuantitativa de un número razonablemente amplio de elementos. Sin embargo, no ha tenido hasta la fecha una gran aplicación debido a la gran eficacia de los métodos de emisión atómica y especialmente los de absorción atómica, los cuales precedieron a la fluorescencia atómica en más de una década. Tal como se ha mencionado anteriormente, esta gran eficacia ha conducido a que se disponga de instrumentos de absorción y de emisión por parte de una gran variedad de fabricantes. Actualmente no se comercializa ningún instrumento de fluorescencia atómica.

¹⁷ Para más información sobre espectroscopia de fluorescencia atómica, véase C. Veillon, en *Trace Analysis*, J. D. Winefordner, Ed., Capítulo 6. New York: Wiley, 1976; N. Omenetto y J. D. Winefordner, *Prog. Anal. At. Spectroscop.*, **1979**, 2, 1; J. C. Van Loon, *Anal. Chem.*, **1981**, 53, 332A; D. Butcher y col., *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **1988**, 3, 1059.

TABLA 9-3. Límites de detección (ng/mL)* para algunos elementos seleccionados†

Elemento	AAS‡ llama	AAS§ electrotérmico	AES‡ llama	AES‡ ICP	AFS‡ llama
Al	30	0,005	5	2	5
As	100	0,02	0,0005	40	100
Ca	1	0,02	0,1	0,02	0,001
Cd	1	0,0001	800	2	0,01
Cr	3	0,01	4	0,3	4
Cu	2	0,002	10	0,1	1
Fe	5	0,005	30	0,3	8
Hg	500	0,1	0,0004	1	20
Mg	0,1	0,00002	5	0,05	1
Mn	2	0,0002	5	0,06	2
Mo	30	0,005	100	0,2	60
Na	2	0,0002	0,1	0,2	—
Ni	5	0,02	20	0,4	3
Pb	10	0,002	100	2	10
Sn	20	0,1	300	30	50
V	20	0,1	10	0,2	70
Zn	2	0,00005	0,0005	2	0,02

* nanogramo/mililitro = 10^{-3} $\mu\text{g/mL}$ = 10^{-3} ppm.

† AAS = espectroscopia de absorción atómica; AES = espectroscopia de emisión atómica; AFS = espectroscopia de fluorescencia atómica; ICP = plasma de acoplamiento inductivo.

‡ Reproducción autorizada de V. A. Fassel y R. N. Kniseley, *Anal. Chem.*, **1974**, *46*, 1111A. Copyright 1974 American Chemical Society.

§ De C. W. Fuller, *Electrothermal Atomization for Atomic Absorption Spectroscopy*, págs. 65-83. London: The Chemical Society, 1977. Con autorización. The Royal Society of Chemistry, Burlington House: London.

El uso limitado de la fluorescencia atómica no se ha debido tanto a las desventajas del método, sino más bien al hecho de que no se ha demostrado ventajas adicionales con respecto a los métodos de absorción y de emisión ya establecidos. De este modo, mientras que los métodos de fluorescencia, en especial aquellos basados en la atomización electrotérmica, son algo más sensibles quizás para cinco o diez elementos, el procedimiento es también menos sensible y tiene un menor intervalo de concentración útil para algunos otros. Además, los instrumentos de fluorescencia dispersivos resultan ser más complejos y potencialmente más caros tanto por su coste inicial como por su mantenimiento¹⁸.

9E-1. Instrumentación

Los componentes de los instrumentos para medidas de fluorescencia atómica presentan general-

mente una disposición similar a la indicada en la Figura 7-1b (página 152). El receptáculo de la muestra es normalmente una llama, pero también puede ser un horno electrotérmico, una descarga luminiscente o un plasma de acoplamiento inductivo, como se describe en el Apartado 10A-1.

Fuentes

Sería deseable una fuente continua para las medidas de fluorescencia atómica. Lamentablemente, sin embargo, la potencia de salida de la mayoría de las fuentes continuas en una región tan estrecha como la de una línea de absorción atómica es tan pequeña que limita la sensibilidad del método de una manera importante.

En los trabajos iniciales de la fluorescencia atómica, se utilizaban frecuentemente las lámparas de cátodo hueco como fuentes de excitación. Para aumentar la intensidad de salida sin destruir la lámpara, fue necesario aplicar a la lámpara impulsos cortos de una corriente mayor que la que tolera la lámpara en funcionamiento continuo. Naturalmente, el detector dispone de un mecanismo de com-

¹⁸ Véase W. B. Barnett y H. L. Kahn, *Anal. Chem.*, **1972**, *44*, 935.

puerta que sólo le permite observar la señal de fluorescencia durante el impulso.

Quizás la fuente más utilizada en fluorescencia atómica ha sido la lámpara de descarga sin electrodos (Apartado 9B-1), que generalmente produce intensidades de radiación superiores a las de la lámpara de cátodo hueco en un orden de magnitud o dos. Las lámparas de descarga sin electrodos se han utilizado tanto en modo continuo como en modo de impulsos. Desgraciadamente, este tipo de lámpara no está disponible para muchos elementos.

La fuente ideal para las medidas de fluorescencia atómica son los láseres, por sus elevadas intensidades y sus anchuras de banda estrechas. Sin embargo, su elevado coste ha impedido su aplicación en métodos de fluorescencia atómica de rutina.

Instrumentos dispersivos

Un sistema dispersivo para medidas de fluorescencia atómica está constituido por una fuente modulada, un atomizador (con llama o sin llama), un monocromador o un sistema de filtros de interferencia, un detector y un sistema de procesamiento de la señal y de lectura. A excepción de la fuente, la mayoría de estos componentes son similares a los explicados en apartados anteriores de este capítulo.

Instrumentos no dispersivos

En teoría, cuando se utiliza como fuente de excitación una lámpara de descarga sin electrodos o una lámpara de cátodo hueco, no sería necesario un monocromador o un filtro, ya que la radiación emitida, en principio, es la de un único elemento y por ello sólo excitará a los átomos de ese elemento. Un sistema no dispersivo podría estar constituido solamente por una fuente, un atomizador y un detector. Algunas de las ventajas de estos sistemas son: (1) la simplicidad y bajo coste de la instrumentación,

(2) la fácil adaptación para el análisis multielemental, (3) el alto rendimiento energético, y por ello una mayor sensibilidad y (4) la recogida simultánea de la energía de múltiples líneas, lo que también aumenta la sensibilidad.

A fin de aprovechar estas importantes ventajas, es necesario que la señal de salida de la fuente esté libre de líneas contaminantes de otros elementos; además, el atomizador debería emitir una radiación de fondo no significativa, lo que se puede conseguir en algunos casos con los atomizadores electrotérmicos, pero no es posible con las llamas típicas. Para solucionar este último problema, se han utilizado filtros, colocados entre la fuente y el detector, para eliminar el grueso de la radiación de fondo. Alternativamente, se han aplicado detectores fotomultiplicadores, insensibles a la luz solar, que sólo responden a la radiación de longitud de onda inferior a 320 nm. En este caso, el analito debe emitir líneas con longitudes de onda menores que 320 nm.

9E-2. Interferencias

Las interferencias que se producen en la espectroscopia de fluorescencia atómica son del mismo tipo y aproximadamente de igual magnitud que las observadas en la espectroscopia de absorción atómica¹⁹.

9E-3. Aplicaciones

Los métodos de fluorescencia atómica se han aplicado al análisis de metales en materiales como aceites lubricantes, agua de mar, sustancias biológicas, grafito y muestras agrícolas²⁰. Los límites de detección de los procedimientos de fluorescencia atómica se indican en la Tabla 9-3.

¹⁹ Véase J. D. Winefordner y R. C. Elser, *Anal. Chem.*, **1971**, 43 (4), 24A.

²⁰ Para un resumen de las aplicaciones, véase J. D. Winefordner, *J. Chem. Educ.*, **1978**, 55, 72.

9F. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 9-1.** Definir los siguientes términos: (a) agente liberador, (b) agente protector, (c) supresor de ionización, (d) atomización, (e) ensanchamiento por presión, (f) lámpara de cátodo hueco, (g) chisporroteo, (h) autoabsorción, (i) interferencia espectral, (j) interferencia química, (k) amortiguador de radiación y (l) ensanchamiento por efecto Doppler.
- 9-2.** Describir los efectos que explican los tres distintos perfiles de absorbancia de la Figura 9-4 y citar tres elementos más que presenten perfiles similares.
- 9-3.** ¿Por qué un atomizador electrotérmico es más sensible que un atomizador de llama?
- 9-4.** Describir cómo se puede utilizar una lámpara de deuterio para la corrección de fondo en un espectro de absorción atómica.
- 9-5.** ¿Por qué se utiliza la modulación de la fuente en la espectroscopia de absorción atómica?
- 9-6.** Para la misma concentración de níquel, la altura del pico de absorción a 352,4 nm resultó ser un 30 por 100 aproximadamente más grande cuando la disolución contiene un 50 por 100 de etanol que para una disolución acuosa. Justifíquese.
- 9-7.** El espectro de emisión de una lámpara de cátodo hueco de molibdeno tenía un pico agudo a 313,3 nm siempre que la corriente de la lámpara fuera menor de 50 mA. Sin embargo, a corrientes más altas el pico mostraba un cráter en forma de copa en su máximo. Justifíquese.
- 9-8.** Un químico pretende determinar estroncio con un instrumento de absorción atómica equipado con un mechero de óxido nítrico/acetileno, pero la sensibilidad asociada con la línea de resonancia a 460,7 nm no es satisfactoria. Sugerir al menos tres opciones que puedan realizarse para mejorar la sensibilidad.
- 9-9.** ¿Por qué la emisión atómica es más sensible a la inestabilidad de la llama que la absorción o la fluorescencia atómica?
- 9-10.** La Figura 9-1 resume muchos de los procesos que tienen lugar en un mechero de flujo laminar. Describir los procesos que previsiblemente ocurren en un análisis de una disolución acuosa de MgCl_2 .
- 9-11.** Utilizar la Ecuación 7-13 para el poder de resolución de un monocromador de red para calcular el tamaño mínimo teórico de una red de difracción que proporcione un perfil de línea de absorción atómica a 500 nm con una anchura de línea de 0,002 nm. Suponer que se utiliza el primer orden de la red, y que está rayada con 2.400 líneas/mm.
- 9-12.** Calcular la intensidad relativa de la línea de emisión del potasio a 766,5 nm para la llama que se muestra en la Figura 9-3, a las siguientes alturas por encima de la llama (considerar que no hay ionización):
(a) 2,0 cm (b) 3,0 cm (c) 4,0 cm (d) 5,0 cm
- 9-13.** En una llama de hidrógeno/oxígeno, se observó que el pico de absorción atómica del hierro disminuía en presencia de grandes concentraciones de ion sulfato.
(a) Sugerir una explicación para este hecho.
(b) Sugerir tres posibles métodos para evitar la potencial interferencia del sulfato en un análisis cuantitativo de hierro.

- 9-14.** Para los átomos de Na y Mg^+ , comparar las relaciones entre el número de partículas en el estado excitado $3p$ y el número en estado fundamental en
- una llama de gas natural/aire (2.100 K),
 - una llama de hidrógeno/oxígeno (2.900 K),
 - una fuente de plasma de acoplamiento inductivo (6.000 K).
- 9-15.** En fuentes de alta temperatura, los átomos de sodio emiten un doblete con una longitud de onda promedio de 1.139 nm. La transición responsable es del estado $4s$ al $3p$. Calcular la relación entre el número de átomos excitados en el estado $4s$ y el número en estado fundamental $3s$ en
- una llama de acetileno/oxígeno (3.000 °C),
 - la parte más caliente de una fuente de plasma de acoplamiento inductivo (≈ 9.000 °C).
- 9-16.** Considerando que los picos que se muestran en la Figura 9-7 se obtuvieron con alícuotas de 2 μL de los patrones y de la muestra, calcular la concentración en partes por millón de plomo en la muestra de zumo de naranja enlatado.
- 9-17.** Sugerir el origen de los dos picos de la Figura 9-7 que aparecen durante los procesos de desecación y calcinación.
- 9-18.** En el intervalo de concentración de 500 a 2.000 ppm de U, se encuentra una relación lineal entre la absorbancia a 351,5 nm y la concentración. A menores concentraciones la relación deja de ser lineal a no ser que se introduzcan unas 2.000 ppm de una sal de un metal alcalino. Justifíquese.
- 9-19.** ¿Por qué se utiliza un patrón interno en los métodos de emisión de llama?
- 9-20.** Se trató una muestra de 5,00 mL de sangre con ácido tricloroacético para precipitar las proteínas. Después de centrifugar, la disolución resultante se llevó a pH 3 y se procedió a una extracción con dos alícuotas de 5 mL de metil isobutil cetona conteniendo el agente orgánico acomplejante de plomo APCD. El extracto se aspiró directamente a una llama de aire/acetileno, dando una absorbancia de 0,444 a 283,3 nm. Se trataron de la misma forma alícuotas de cinco mililitros de disoluciones patrón conteniendo 0,250 y 0,450 ppm de Pb, dando absorbancias de 0,396 y 0,599 respectivamente. Calcular las ppm de Pb en la muestra suponiendo que se cumple la ley de Beer.
- 9-21.** Se determinó el sodio en una serie de muestras de cemento por espectroscopia de emisión de llama. El fotómetro de llama se calibró con una serie de patrones conteniendo 0; 20,0; 40,0; 60,0 y 80,0 μg de Na_2O por mL. Las lecturas del instrumento, R , para esas disoluciones fueron 3,1; 21,5; 40,9; 57,1 y 77,3.
- Representar los datos.
 - Deducir la recta de mínimos cuadrados para los datos.
 - Calcular las desviaciones estándar de la pendiente y los residuales de la recta hallada en (b).
 - Al repetir el análisis de muestras de 1,000 g de cemento, que se disolvieron en HCl y se diluyeron a 100,0 mL tras neutralizar, se obtuvieron los siguientes datos

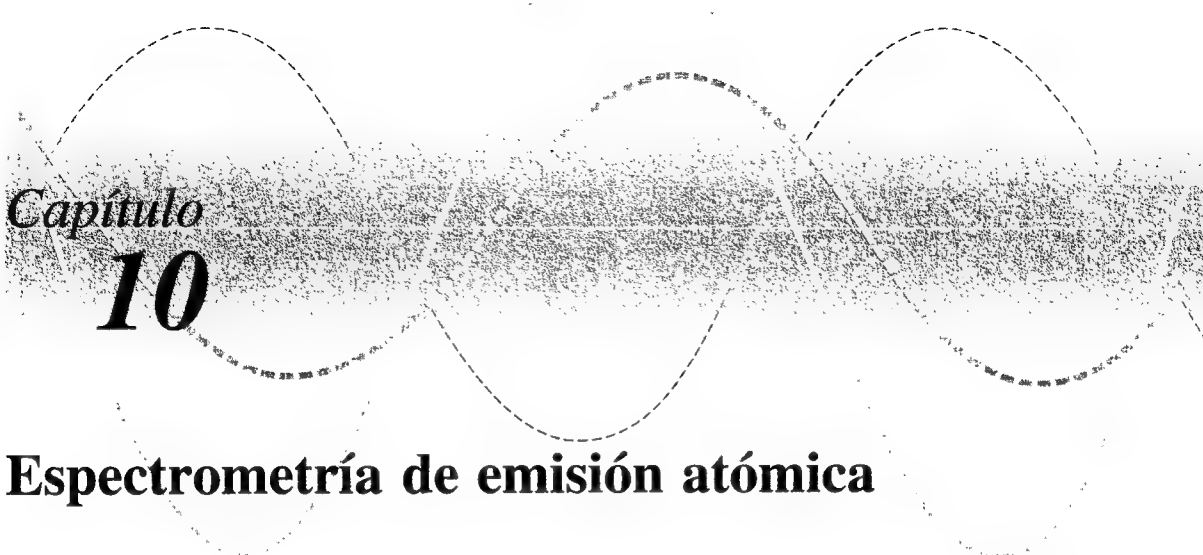
	Lectura de emisión			
	Blanco	Muestra A	Muestra B	Muestra C
Replicado 1	5,1	28,6	40,7	73,1
Replicado 2	4,8	28,2	41,2	72,1
Replicado 3	4,9	28,9	40,2	Derramada

Calcular el porcentaje de Na_2O en cada muestra. ¿Cuál es la desviación estándar absoluta y relativa para el promedio de cada determinación?

- 9-22. Se determinó el cromo en una muestra acuosa pipeteando alícuotas de 10,0 mL de la muestra en cinco matraces aforados de 50,0 mL. Antes de enrasar los matraces, se añadieron a cada uno de ellos volúmenes distintos de un patrón de 12,2 ppm de Cr.

Muestra, mL	Patrón, mL	Absorbancia
10,0	0,0	0,201
10,0	10,0	0,292
10,0	20,0	0,378
10,0	30,0	0,467
10,0	40,0	0,554

- (a) Representar los datos.
- (b) Deducir una ecuación que relacione la absorbancia y el volumen de patrón.
- (c) Calcular la desviación estándar de la pendiente y la desviación estándar de la regresión en (b).
- (d) Calcular las ppm de Cr en la muestra.
- (e) Calcular la desviación estándar del resultado en (d).



Capítulo 10

Espectrometría de emisión atómica

Este capítulo trata sobre la espectrometría óptica de emisión atómica (AES)¹. Generalmente, los atomizadores citados en la Tabla 8-1 no sólo transforman los componentes de las muestras en átomos o iones elementales sencillos, sino que también, durante el proceso, excitan una parte de estas especies a estados electrónicos superiores. La rápida relajación de las especies excitadas va acompañada de la producción de espectros de líneas ultravioleta y visible que son útiles para el análisis cualitativo y cuantitativo de los elementos. Históricamente, la espectroscopia de emisión atómica requería la atomización y excitación mediante llama, arco eléctrico y chispa eléctrica. Estos métodos todavía tienen aplicaciones importantes para el análisis de elementos metálicos. Sin embargo, actualmente las fuentes de plasma se han convertido en las más

más importantes y más ampliamente utilizadas en espectrometría de emisión atómica. De las tres fuentes de plasma indicadas en la Tabla 8-1, el plasma de acoplamiento inductivo es, con mucho, más importante que el plasma de corriente continua y el plasma inducido por microondas.

La espectrometría de emisión de plasma, arco y chispa ofrece varias ventajas con respecto a los métodos de absorción de llama y electrotérmico considerados en el Capítulo 9. Entre sus ventajas está la menor interferencia entre elementos, que es una consecuencia directa de sus temperaturas más elevadas. En segundo lugar, se obtienen buenos espectros de emisión para la mayoría de los elementos en unas mismas condiciones de excitación; en consecuencia, se pueden registrar **simultáneamente** espectros para docenas de elementos. Esta propiedad tiene especial importancia en el análisis multielemental de muestras muy pequeñas. Desde este punto de vista, las fuentes de llama son menos satisfactorias, porque las condiciones óptimas de excitación varían mucho de un elemento a otro; se necesitan altas temperaturas para la excitación de algunos elementos y bajas para otros; por último,

¹ Para una explicación más completa de la espectroscopia de emisión, véase R. D. Sacks, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.^a ed., P. J. Elving, E. J. Meehan, I. M. Kolthoff, Eds., Parte I, Vol. 7, Capítulo 6. New York: Wiley, 1981; T. Torok, J. Mika y E. Gegus, *Emission Spectrochemical Analysis*. New York: Crane Russak, 1978; J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, Capítulos 7-9, 11. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1988.

la región de la llama que permite obtener intensidades óptimas de la línea analítica es distinta de un elemento a otro. Otra ventaja de las fuentes de plasma, más energéticas, es que permiten la determinación de bajas concentraciones de elementos que tienden a formar compuestos refractarios (es decir, compuestos que son muy resistentes a la descomposición térmica, tales como óxidos de boro, fósforo, wolframio, uranio, circonio y niobio). Además, las fuentes de plasma permiten la determinación de no metales como cloro, bromo, yodo y azufre. Finalmente, los métodos con fuentes de plasma tienen generalmente unos intervalos lineales de concentración que abarcan varias decenas de órdenes de magnitud, a diferencia de los métodos de absorción descritos en el capítulo anterior que sólo abarcan dos o tres órdenes.

Los espectros de emisión obtenidos utilizando fuentes de plasma, arco o chispa con frecuencia son muy complejos, están constituidos por cientos, o incluso miles, de líneas. Esta cantidad de líneas, que es muy ventajosa cuando se busca información cualitativa, aumenta la probabilidad de interferencias espectrales en el análisis cuantitativo. Consecuentemente, la espectroscopia de plasma, arco y chispa requiere equipos ópticos de mayor resolución y más caros que los de absorción atómica de llama o electrotérmica.

A pesar de sus diversas ventajas, es poco probable que los métodos de emisión que utilizan fuentes de alta energía desplacen por completo alguna vez a los procedimientos de absorción atómica de llama y electrotérmica. De hecho, los métodos de absorción y de emisión atómicos resultan ser complementarios. Entre las ventajas de los procedimientos de absorción atómica se encuentran las de requerir equipos más simples y menos caros, menores costes de operación, una precisión algo mayor (al menos hasta este momento), y que para obtener resultados satisfactorios no se necesita una gran habilidad por parte del operador².

² Para una comparación excelente de las ventajas y desventajas de las llamas, hornos y plasmas como fuentes para espectroscopia de emisión, véase W. Slavin, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 589A.

10A. ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN CON FUENTES DE PLASMA

Por definición, un plasma es una mezcla gaseosa conductora de la electricidad que contiene una concentración significativa de cationes y electrones (la concentración de ambos es tal que la carga neta se aproxima a cero). En el plasma de argón empleado frecuentemente en los análisis de emisión, los iones de argón y los electrones son las principales especies conductoras, aunque los cationes de la muestra también estén presentes en menor cantidad. Una vez que se han formado los iones de argón en un plasma, son capaces de absorber la suficiente energía de una fuente externa como para mantener la temperatura a un nivel tal que la posterior ionización sustente el plasma indefinidamente; la temperatura puede llegar a ser de 10.000 K. Existen tres tipos de plasma de alta temperatura: (1) plasma de acoplamiento inductivo (ICP), (2) plasma de corriente continua (DCP), y (3) plasma inducido por microondas (MIP)³. Las dos primeras fuentes se encuentran comercializadas por distintas compañías. La fuente de plasma inducido por microondas no se emplea mucho para el análisis de elementos, ya que no está disponible en el mercado. Por ello, no se considerará esta fuente en el presente capítulo. Sin embargo, es de destacar que una casa comercial ofrece actualmente una fuente de plasma inducido por microondas como detector de elementos para cromatografía de gases. Este instrumento se describe brevemente en el Apartado 27B-4.

10A-1. La fuente de plasma de acoplamiento inductivo⁴

La Figura 10-1 muestra un esquema de una fuente típica de plasma de acoplamiento inductivo deno-

³ Para una comparación de estas fuentes, véase R. D. Sacks, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.^a ed., P. J. Elving, E. J. Meehan e I. M. Kolthoff, Eds., Parte I, Vol. 7, págs. 516-526. New York: Wiley, 1981; A. T. Zander, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 1139A.

⁴ Para una explicación más completa, véase V. A. Fassel *Science*, **1978**, 202, 183; V. A. Fassel, *Anal. Chem.*, **1979**, 51, 1290A; G. A. Meyer, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 1345A; *Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy*, Partes 1 y 2, P. W. J. M. Boumans, Ed. New York: Wiley, 1987; A. Varma, *CRC Handbook of Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy*, Boca Raton: CRC Press, 1990; *Inductively Coupled Plasma in Analytical Atomic Spectroscopy*, A. Montaser y D. W. Golightly, Eds. New York: VCR Publishers, 1987; *Handbook of Inductively Coupled Plasma Spectroscopy*, M. Thompson y J. N. Walsh, Eds. New York: Chapman & Hall, 1989.

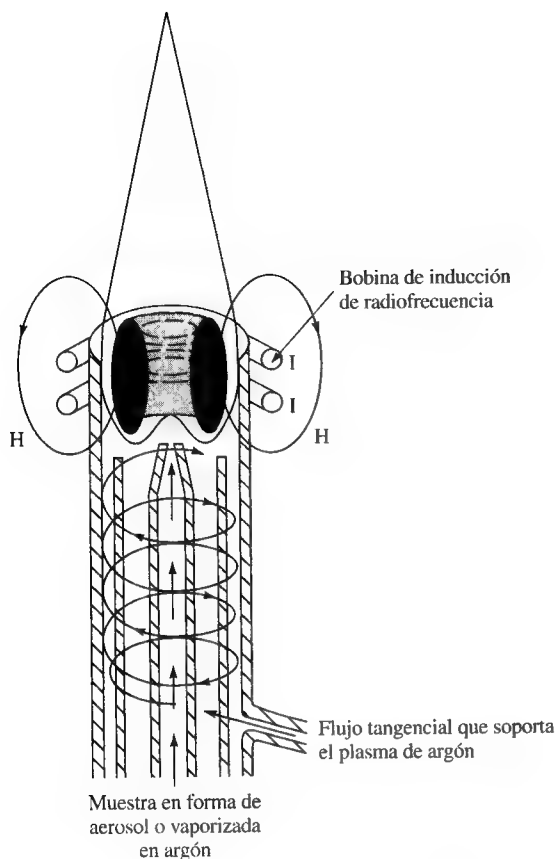


Figura 10-1. Típica fuente de plasma de acoplamiento inductivo. (De V. A. Fassel, *Science*, **1978**, 202, 185. Reproducción autorizada. Copyright 1978 por la American Association for the Advancement of Science.)

minada *antorcha*. Consiste en tres tubos concéntricos de cuarzo a través de los cuales fluyen corrientes de argón. Dependiendo del diseño de la antorcha, la velocidad de consumo total de argón es de 5 a 20 L/min. El diámetro del tubo más grande es de aproximadamente 2,5 cm. Rodeando la parte superior de este tubo se encuentra una bobina de inducción, refrigerada por agua, que está alimentada por un generador de radiofrecuencia, capaz de producir una potencia de 0,5 a 2 kW a unos 27 o 41 MHz. La ionización del argón que fluye se inicia por medio de una chispa que proviene de una bobina Tesla. Los iones resultantes y sus electrones asociados interactúan entonces con el campo magnético oscilante (indicado como H en la Fig. 10-1) producido por la bobina de inducción. Esta interacción hace que los iones y los electrones dentro de la bobina se muevan en trayectorias circulares, representadas en la Figura 10-1; el calentamiento óhmico es con-

secuencia de la resistencia que presentan los iones y electrones a este movimiento.

La temperatura del plasma así formado es lo suficientemente elevada como para hacer necesario el aislamiento térmico del cilindro exterior de cuarzo. Para lograrlo, se hace fluir argón de forma tangencial alrededor de las paredes del tubo, como indican las flechas en la Figura 10-1; este flujo enfría las paredes interiores del tubo central y centra el plasma radialmente⁵.

Una reciente innovación en el diseño de la antorcha, comercializada por varios fabricantes, conlleva un giro de 90° de la antorcha de manera que se alinea horizontalmente con el espectrómetro. La radiación emitida desde el centro del plasma se utiliza para los análisis. Se ha publicado que con esta disposición se mejoran los límites de detección de cuatro a diez veces.

Hay que considerar que el caudal de argón a través de una antorcha típica es lo suficientemente elevado y supone un coste significativo (varios miles de dólares al año).

Introducción de la muestra

Las muestras se introducen dentro de la antorcha mostrada en la Figura 10-1, mediante un flujo de argón de 0,3 a 1,5 L/min a través del tubo central de cuarzo. Las muestras se introducen en el flujo de argón por cualquiera de los métodos descritos en el Apartado 8C-1 y citados en la Tabla 8-2. Con frecuencia, la mayor fuente de ruido en un método de ICP radica en la etapa de introducción de la muestra⁶.

Los dispositivos más utilizados para la inyección de la muestra son los nebulizadores, como los que se mostraron en la Figura 8-9. La Figura 10-2 ilustra una típica disposición del mismo. En este caso, la muestra se nebuliza mediante un nebulizador de flujo cruzado con una corriente de argón, y las gotitas finamente divididas resultantes se introducen dentro del plasma. También se han producido aerosoles a partir de líquidos mediante un nebulizador ultrasónico.

Otro método para la introducción de muestras líquidas y sólidas en un plasma es la vaporización electrotérmica. En este caso, la muestra se vaporiza en un horno similar a los descritos para la atomiza-

⁵ Para una descripción de antorchas comerciales, véase D. Noble, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 105A.

⁶ Véase R. F. Browner y A. W. Boorn, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, 787A, 875A.

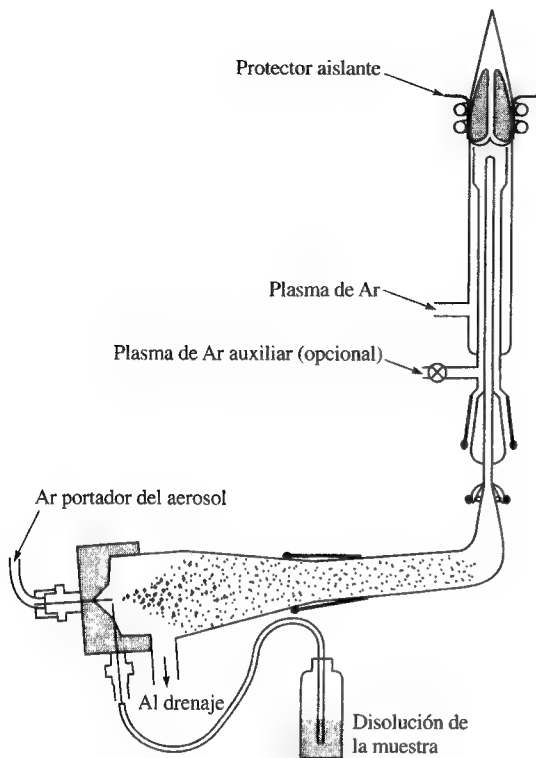


Figura 10-2. Típico nebulizador para la inyección de la muestra en una fuente de plasma. (De V. A. Fassel, *Science*, **1978**, 202, 186. Reproducción autorizada. Copyright 1978 por la American Association for the Advancement of Science.)

ción electrotérmica en el Apartado 8C-1. Sin embargo, para las aplicaciones de plasma, el horno se utiliza *únicamente* para la *introducción de la muestra* y no para la *atomización de la muestra*. La Figura 10-3 muestra un vaporizador electrotérmico comercial en el que la vaporización se produce sobre una barra de grafito abierta. A continuación el vapor se conduce hasta la antorcha de plasma mediante un flujo de argón. La señal observada consiste en un pico fugaz semejante a los picos obtenidos en absorción atómica electrotérmica. La vaporización electrotérmica acoplada a una antorcha de plasma ofrece las ventajas de los hornos electrotérmicos de poder analizar micromuestras y de poseer bajos límites de detección, a la vez que mantiene el amplio intervalo lineal de trabajo, la ausencia de interferencias y la aptitud para el análisis multielemental del ICP.

Los dispositivos de ablación para sólidos descritos en el Apartado 8C-2 también son comercializados por varios fabricantes de instrumentos de

ICP. Con estos sistemas de introducción de la muestra, la nube de vapor y partículas sólidas producida por la interacción de la muestra con un arco eléctrico, una chispa eléctrica o un haz de láser se transportan mediante un flujo de argón al interior de la antorcha, donde posteriormente se producirá la atomización y excitación.

Aspecto del plasma y espectros

Un plasma característico tiene un núcleo no transparente, blanco brillante y muy intenso, coronado por una cola en forma de llama. El núcleo, que sobresale algunos milímetros por encima del tubo, consiste en una emisión continua a la que se superpone el espectro atómico del argón. El origen de la emisión continua proviene aparentemente de la recombinación de los electrones con el argón y otros iones. En la zona situada entre 10 y 30 mm por encima del núcleo, la emisión continua se desvanece y el plasma es ópticamente transparente. Las observaciones espectrales por lo general se hacen a una altura de 15 a 20 mm por encima de la bobina de inducción. En esta zona la radiación de fondo está libre de las líneas del argón y resulta adecuada para el análisis. Muchas de las líneas analíticas más sensibles en esta zona del plasma provienen de iones, como Ca^+ , Ca^{2+} , Cd^+ , Cr^{2+} y Mn^{2+} .

Atomización e ionización de los analitos

La Figura 10-4 muestra las temperaturas en varias zonas del plasma. En el momento en que los átomos de la muestra alcanzan el punto de observación, habrán permanecido unos 2 ms a temperaturas comprendidas entre 4.000 y 8.000 K. Estos tiempos y temperaturas son aproximadamente dos o tres veces mayores que los que se encuentran en las llamas de combustión más caloríficas (acetileno/óxido nítrico) utilizadas en los métodos de llama. En consecuencia, la atomización es más completa y hay menos problemas de interferencias químicas. Sorprendentemente, los efectos de interferencia por ionización son pequeños o inexistentes, debido probablemente a que la concentración de electrones que provienen de la ionización del argón es grande, comparada con la que resulta de la ionización de los componentes de la muestra.

Las fuentes de plasma presentan otras ventajas. Primero, la atomización se produce en un medio inerte desde el punto de vista químico, lo que tiende a aumentar el tiempo de vida del analito al evi-

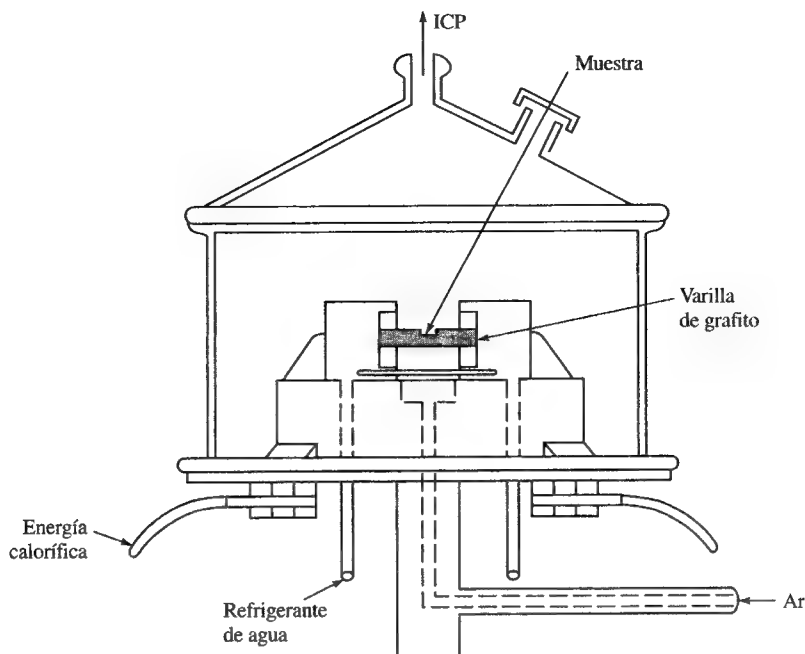


Figura 10-3. Dispositivo para vaporización electotérmica.

tar la formación de óxidos. Además, y a diferencia del arco, la chispa y la llama, la temperatura en la sección transversal del plasma es relativamente uniforme; como consecuencia no se producen efec-

tos de autoabsorción y autoinversión. Así pues, suelen obtenerse curvas de calibrado lineales que cubren varios órdenes de magnitud de concentración del analito.

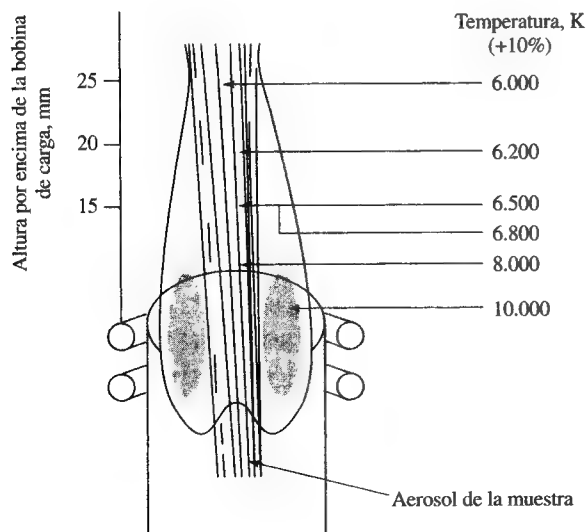


Figura 10-4. Temperaturas en una fuente característica de plasma de acoplamiento inductivo. (De V. A. Fassel, *Science*, 1978, 202, 186. Reproducción autorizada. Copyright 1978 por la American Association for the Advancement of Science.)

10A-2. La fuente de plasma de corriente continua

El plasma de corriente continua se describió por primera vez en los años veinte y fue investigado sistemáticamente como fuente para la espectroscopia de emisión durante varias décadas. Sin embargo, hasta los años setenta no se diseñó una fuente de este tipo que pudiera competir con éxito con las fuentes de llama y de plasma de acoplamiento inductivo en términos de reproducibilidad⁷.

La Figura 10-5 muestra el esquema de una fuente de plasma de corriente continua comercial que resulta adecuada para la excitación de los espectros de emisión de una gran variedad de elementos. Esta fuente de chorro de plasma consiste

⁷ Para más detalles, véase G. W. Johnson, H. E. Taylor y R. K. Skogerboe, *Anal. Chem.*, 1979, 51, 2403; *Spectrochim. Acta*, Parte B, 1979, 34, 197; R. J. Decker, *Spectrochim. Acta*, Parte B, 1980, 35, 21.

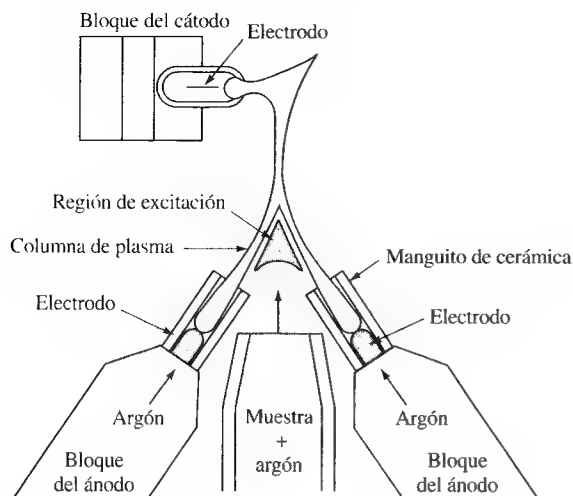


Figura 10-5. Fuente de plasma de corriente continua de tres electrodos. (Cortesía de Spectra Metrics, Inc. Haverhill, MA.)

en tres electrodos dispuestos en una configuración de Y invertida. Un ánodo de grafito se localiza en cada brazo de la Y y un cátodo de wolframio en la base invertida. El argón fluye desde los dos bloques anódicos hacia el cátodo. El chorro de plasma se forma al contactar momentáneamente el cátodo con los ánodos. Se ioniza el argón y se desarrolla una corriente (≈ 14 A) que genera iones adicionales que mantienen la corriente indefinidamente. La temperatura en el núcleo del arco es de unos 10.000 K y en la zona de observación, de 5.000 K. La muestra se aspira dentro del área entre los dos brazos de la Y, donde se atomiza, excita y examina.

Los espectros producidos por un plasma de este tipo tienden a tener menos líneas que los producidos por un plasma de acoplamiento inductivo, y las líneas que aparecen provienen en su mayor parte de átomos más que de iones. La sensibilidad que se consigue con el plasma de corriente continua cubre un intervalo que va desde un orden de magnitud menor hasta aproximadamente la misma que la que se alcanza con el plasma de acoplamiento inductivo. La reproducibilidad de los dos sistemas es semejante. En el plasma de corriente continua se requiere bastante menos argón, y la fuente de alimentación auxiliar es más sencilla y más barata. Por otra parte, los electrodos de grafito se han de sustituir cada pocas horas, mientras que la fuente de plasma de acoplamiento inductivo requiere poco o ningún mantenimiento.

10A-3. Espectrómetros con fuentes de plasma⁸

La Tabla 10-1 indica las propiedades más importantes de un instrumento ideal para espectroscopia de emisión de plasma. No es necesario decir que el espectrómetro ideal no existe hoy en día, en parte porque algunas de estas propiedades se excluyen mutuamente. Por ejemplo, una elevada resolución requiere la utilización de rendijas estrechas, que generalmente reducen la S/N y, por tanto, la precisión de las lecturas de intensidad. No obstante, los instrumentos modernos desarrollados durante la última década comienzan a aproximarse a muchas de las propiedades ideales citadas en la Tabla 10-1.

Una docena o más de fabricantes de instrumentación ofrecen actualmente espectrómetros de emisión de plasma⁹. Sus diseños, las características de funcionamiento y los intervalos de longitud de onda varían considerablemente. La mayoría abarcan el espectro ultravioleta y visible por completo, de 170 nm a 800 nm. Algunos instrumentos están preparados para trabajar en condiciones de vacío, con lo que pueden llegar a longitudes de

⁸ Para una descripción de espectrómetros de emisión modernos, véase A. Strasheim y A. Montaser, en *Inductively Coupled Plasmas in Atomic Spectrometry*, 2.^a ed., A. Montaser y D. W. Golightly, Eds., Capítulo 3. New York: VCH Publishers, 1992; J. W. Olesik, en *Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy*, Parte I, P. W. J. M. Boumans, Ed. New York: Wiley, 1987; G. A. Meyer, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 1345A.

⁹ Para una comparación entre instrumentos comerciales, véase D. Noble, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 105A.

TABLA 10-1. Propiedades deseables de un espectrómetro de emisión

1. Elevada resolución (0,01 nm o $\lambda/\Delta\lambda > 100.000$)
2. Adquisición de la señal y recuperación rápidas
3. Baja luz parásita
4. Amplio intervalo dinámico ($>10^6$)
5. Exactitud y precisión en la identificación y selección de la longitud de onda
6. Lecturas de intensidad precisas ($<1\%$ RSD a 500 veces el límite de detección)
7. Elevada estabilidad con respecto a los cambios ambientales
8. Fácil corrección del fondo
9. Ejecución controlada por ordenador: lectura, almacenamiento, manipulación de los datos, etc.

onda del ultravioleta de hasta 150 nm o 160 nm. Esta región de longitudes de onda cortas es importante, porque elementos como el fósforo, azufre y carbono tienen líneas de emisión en ella.

Los instrumentos para espectroscopia de emisión son principalmente de tres tipos: *secuenciales*, *multicanal simultáneos* y *de transformada de Fourier*. Actualmente, se utilizan poco los instrumentos de transformada de Fourier. Los instrumentos secuenciales generalmente se programan para ir de la línea de un elemento a la de otro, esperando el tiempo suficiente (pocos segundos) hasta obtener una relación señal/ruido satisfactoria. Por otra parte, los instrumentos multicanal se diseñan para medir *simultánea* o casi simultáneamente la intensidad de las líneas de emisión de un gran número de elementos (a veces tantos como 50 o 60). Cuando se han de determinar varios elementos, el tiempo de excitación será bastante mayor con los instrumentos secuenciales que con los otros dos tipos. Por ello, estos instrumentos, aunque son más sencillos, resultan caros en términos de consumo de muestra y de tiempo.

Tanto los espectrómetros de emisión secuenciales como los multicanal son de dos tipos; uno emplea un monocromador de red clásico y el otro un monocromador de red de escalera, como se muestra en la Figura 7-21.

Espectrómetros secuenciales

La mayoría de los instrumentos secuenciales incorporan un monocromador de red, tal como se muestra en la Figura 7-16a con un detector fotomultiplicador. Generalmente la red es holográfica con 2.400 o 3.600 surcos por milímetro. En algunos instrumentos de este tipo, el barrido se realiza girando la red por medio de un motor paso a paso controlado digitalmente, de manera que las distintas longitudes de onda se van enfocando secuencialmente y con mucha precisión en la rendija de salida. No obstante, en algunos diseños, la red es fija y es la rendija y el tubo fotomultiplicador los que se mueven a lo largo del plano o curva focal. También se comercializan instrumentos que tienen dos juegos de rendijas y tubos fotomultiplicadores; uno para la región ultravioleta y el otro para el visible. En este caso, a una determinada longitud de onda, el haz de salida se cambia de una rendija a la otra moviendo un espejo plano.

Espectrómetros de barrido giratorio. Con espectros complejos compuestos por cientos de lí-

neas, realizar el barrido de una región significativa de longitudes de onda conlleva una cantidad de tiempo excesivo, lo que resulta poco práctico. Para solventar parcialmente este problema, se han desarrollado los espectrómetros de *barrido giratorio*, en los que la red, o el detector y la rendija, se mueven mediante un motor de dos velocidades. En este caso, el instrumento se mueve rápidamente o *gira* hacia una longitud de onda próxima a una línea. La velocidad del movimiento se ralentiza rápidamente, de manera que el instrumento barre a través de la línea en una serie de pequeñas etapas (de 0,01 a 0,001 nm). Es esencial el control de dicho instrumento por ordenador. Con el barrido giratorio, se minimiza el tiempo gastado en las regiones de longitud de onda sin datos útiles, sin embargo, se emplea en las líneas analíticas el tiempo suficiente para obtener relaciones señal-ruido satisfactorias.

La Figura 10-6a muestra el diseño de un espectrómetro de barrido giratorio comercial. Este instrumento tiene un sistema de redes combinadas que consiste en dos redes montadas una sobre la otra. El espectro de segundo orden de la red que contiene 2.400 líneas por milímetro se utiliza para un intervalo de longitudes de onda de 160 a 380 nm, y el espectro de primer orden de la red de 1.200 líneas por milímetro se emplea para la región de 380 a 850 nm. Se baja una pantalla para exponer una u otra red en el momento adecuado. Esta disposición proporciona una resolución de 0,008 nm desde 160 a 335 nm, de 0,018 nm de 335 a 670 nm, y de 0,04 nm de 670 a 850 nm. Una rueda de filtros, accionada por un motor y que dispone de una serie de filtros interferenciales, se sitúa enfrente de la rendija de entrada para eliminar los órdenes espectrales que se solapan y la radiación parásita. Además, se utilizan dos rendijas de salida y dos tubos fotomultiplicadores para obtener la máxima sensibilidad en las regiones ultravioleta y visible. Tanto la rueda de filtros como los espejos están controlados por ordenador.

Una característica única de este instrumento es el mecanismo de transmisión de la red tipo galvanómetro, un mecanismo electromagnético que puede barrer de 165 a 800 nm en 20 ms (Fig. 10-6b). El mecanismo de transmisión está controlado por un convertidor digital-analógico y un circuito de realimentación capacitativa. El mecanismo sólo tiene una parte móvil —el eje del rotor central que gira dentro de la bobina electromagnética.

El coste de los instrumentos de barrido giratorio es significativamente menor que el de los es-

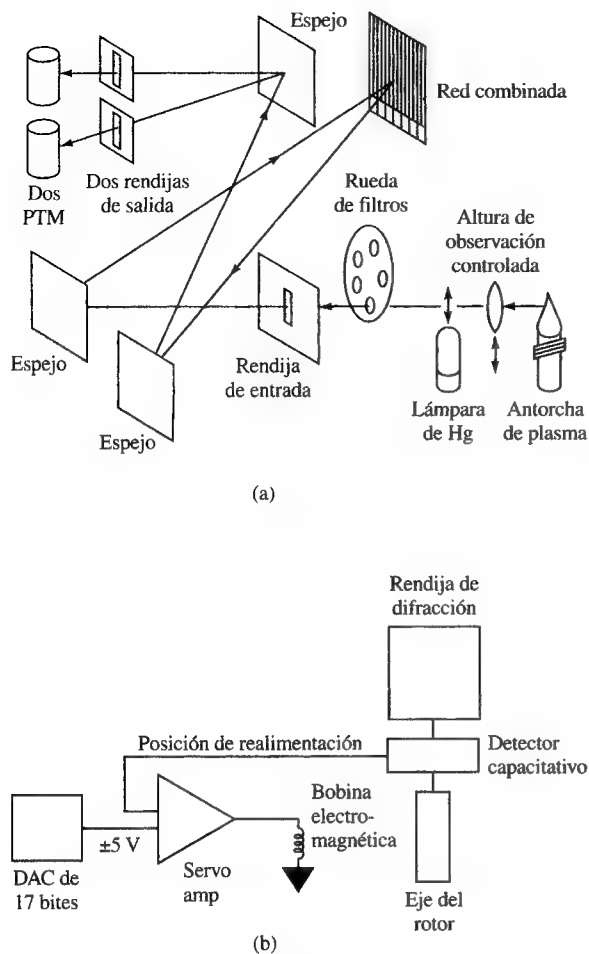


Figura 10-6. (a) Diagrama óptico de un espectrómetro de barrido giratorio para espectrometría ICP. (b) Red controlada magnéticamente. (Cortesía de Thermo Jarrell Ash Corp.)

pectrómetros multicanal explicados en el próximo apartado, y son considerablemente más versátiles, ya que no están restringidos a un número limitado de longitudes de onda preseleccionadas. Sin embargo, generalmente, son más lentos y consumen más muestra que sus homólogos multicanal simultáneos.

Espectrómetros de red de escalera de barrido.

La Figura 10-7 muestra un esquema de un espectrómetro de red de escalera, que apareció por primera vez en el mercado en los años setenta para utilizarlo con una fuente de plasma de corriente continua. Puede funcionar como un instrumento de barrido o como un espectrómetro multicanal simultáneo. El barrido se lleva a cabo por movimiento de un tubo fotomultiplicador en las dos direcciones x e y para barrer una placa de rendijas localizada en el

plano focal del monocromador. La placa contiene 300 rendijas fotograbadas. El tiempo necesario para cambiar de una rendija a otra es generalmente de 1 s. El instrumento puede funcionar en la modalidad de barrido giratorio. También puede convertirse en un policromador multicanal colocando varios tubos fotomultiplicadores pequeños detrás de las rendijas adecuadas en la placa de rendijas.

Espectrómetros multicanal

Los instrumentos multicanal simultáneos pertenecen a dos tipos generales: *policromadores* y *sistemas de elementos en serie*. El primero utiliza para la detección una serie de tubos fotomultiplicadores, mientras que el segundo emplea como detectores dispositivos bidimensionales de inyección de carga o dispositivos de acoplamiento de carga.

Policromadores. Algunas compañías ofrecen espectrómetros de emisión en los que se disponen 60 fotomultiplicadores detrás de rendijas fijas a lo largo del plano focal curvado de un monocromador de red cóncava¹⁰. En la Figura 10-8 se muestra esquemáticamente un instrumento característico. En este caso, la rendija de entrada, las rendijas de salida y la superficie de la red se localizan alrededor de un *círculo de Rowland*, cuya curvatura corresponde a la curva focal de la red cóncava. La radiación que proviene de las distintas rendijas fijas se refleja mediante espejos (dos de los cuales se muestran) hacia los tubos fotomultiplicadores. Las rendijas vienen fijadas por el fabricante para transmitir las líneas de los elementos elegidos por el usuario. Sin embargo, en este instrumento es relativamente económico cambiar la distribución de las líneas para incorporar nuevos elementos o eliminar otros. Las señales de los distintos tubos fotomultiplicadores se recogen en integradores analógicos individuales; a continuación los voltajes de salida se digitalizan, se transforman en concentraciones, se guardan y se visualizan. La rendija de entrada se puede mover tangencialmente en el círculo de Rowland mediante un motor paso a paso. Este dispositivo permite el barrido a través de los picos, y proporciona información para las correcciones del fondo.

Espectrómetros como el que ilustra la Figura 10-8 se han utilizado tanto con fuentes de plasma como de arco y chispa. Estos instrumentos son,

¹⁰ Para una recopilación de los desarrollos recientes en los instrumentos multicanal, véase D. D. Nygaard y J. J. Sotera, *Amer. Lab.*, **1988** (7), 30.

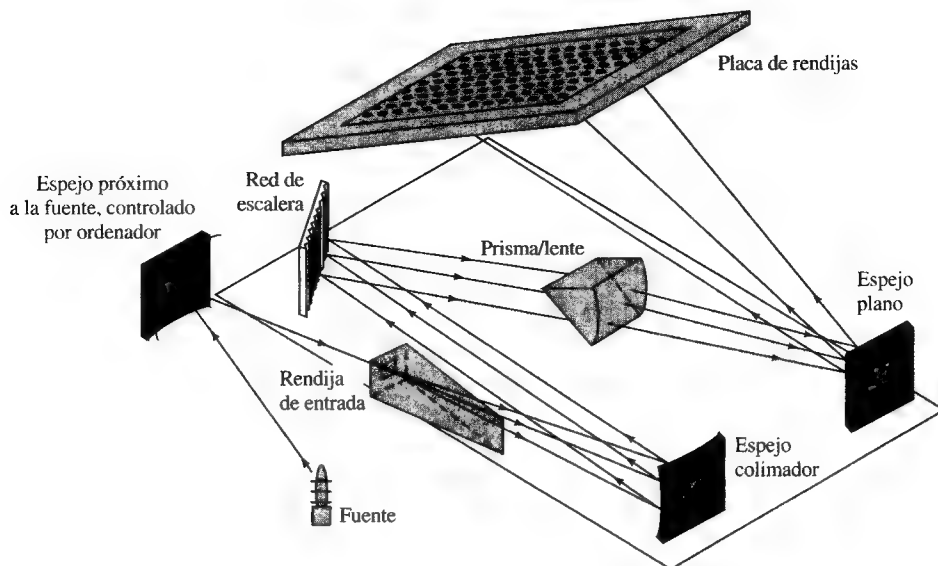


Figura 10-7. Esquema de un sistema policromador de escalera.

a menudo, ideales para análisis de rutina rápidos. Por ejemplo, en la fabricación de aleaciones, se puede completar la determinación cuantitativa de 20 o más elementos a los cinco minutos de recibir una muestra; de este modo, es posible un control riguroso de la composición de un producto final.

Los espectrómetros multicanal fotoeléctricos, además de la rapidez, presentan con frecuencia la ventaja de una buena precisión analítica. En condiciones ideales, se han obtenido reproductibilidades del orden del 1 por 100 respecto a la cantidad presente. Algunos instrumentos más modernos están equipados con un segundo monocromador que permite el barrido espectral, lo que añade una versatilidad de la que carecen los anteriores instrumentos.

Los espectrómetros multicanal son más caros (>80.000 \$) y, por lo general, no son tan versátiles como los instrumentos secuenciales descritos en el apartado anterior.

Instrumentos de inyección de carga. A principios de los años noventa, tres compañías americanas ofrecieron espectrómetros multicanal simultáneos que disponen de espectrómetros de red de escalera y detectores bidimensionales de transferencia de carga¹¹. Parece probable que este tipo de instrumento sustituirá a la larga a los otros tipos de espectrómetros multicanal de emisión.

La Figura 10-9 muestra un diagrama óptico de un espectrómetro de red de escalera que utiliza un detector de inyección de carga para trabajar de manera simultánea¹². Emplea un prisma de fluoruro de calcio para clasificar la radiación que a continuación llegará a la red de escalera donde se formarán los distintos órdenes espectrales (véase también Fig. 7-21). El transductor es un dispositivo de inyección de carga (página 184) con unas dimensiones de 8,7 mm por 6,6 mm y contiene 94.672 elementos de detección. Se utiliza un espejo toroidal para focalizar las imágenes de la rendija sobre la superficie del transductor. Para eliminar la corriente oscura en los elementos del detector, la unidad se introduce en nitrógeno líquido que mantiene la temperatura a 135 K.

Se utiliza un grupo de 39 elementos de detección, denominado *ventana de lectura*, para controlar cada línea espectral, tal como se muestra en la Figura 10-10a. Habitualmente, como se indica en la imagen ampliada de una de las ventanas designada como «ventana de evaluación», la línea espectral se focaliza sobre los 9 elementos centrales de la ventana, mientras que los 15 elementos situados a ambos lados del grupo central proporcionan los datos sobre la intensidad del fondo. La Figura 10-10b muestra las intensidades registradas por la ventana de lectura para la línea del hierro a

¹¹ Véase J. V. Sweedler, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **1993**, 24, 59.

¹² Véase M. J. Pilon, M. B. Denton, R. G. Schleicher, P. M. Moran, y S. B. Smith, *Appl. Spectrosc.*, **1990**, 44, 1613.

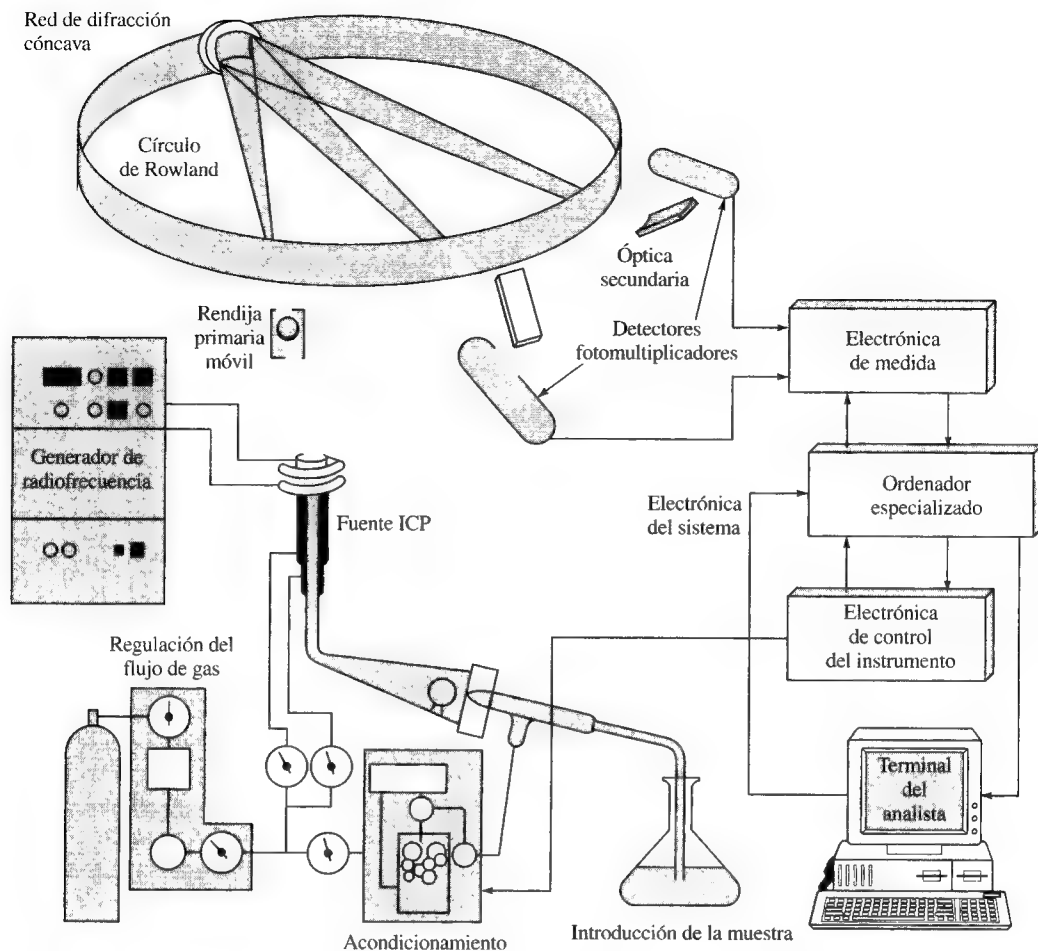


Figura 10-8. Esquema de un policromador ICP. (Cortesía de Thermo Jarrell Ash Corp.)

297,32 nm. Obsérvese que la mayoría de la radiación del hierro cae sobre los elementos centrales de la ventana.

Una de las características útiles del detector de inyección de carga, a diferencia del detector de acoplamiento de carga, es que la cantidad de carga acumulada en un elemento en cualquier instante puede ser controlada de manera no destructiva; es decir, no se pierde ninguna carga durante el proceso de medida. Para medir la intensidad de la línea de la forma más rápida y eficaz posible, sólo se lee inicialmente la carga acumulada en los nueve elementos centrales de la ventana para determinar cuándo se ha acumulado la carga suficiente para obtener una relación señal/ruido satisfactoria. Sólo entonces se leen los elementos restantes en los dos grupos de 15 elementos, para corregir la intensidad de la línea observada para la radiación del fondo. Este proceso prosigue simultáneamente en las ven-

tananas de lectura para cada elemento. Con una línea intensa, el tiempo necesario para acumular la carga deseada es corto. Con líneas débiles, la carga acumulada en un período de tiempo corto se utiliza frecuentemente para estimar el tiempo de integración necesario para producir una relación señal/ruido satisfactoria. En algunos casos, se necesitan tiempos de integración de 100 s o más.

El calibrado periódico de la longitud de onda del espectrómetro que se acaba de describir se realiza con referencia a la línea de mercurio de 253,65 nm, que proporciona una pequeña lámpara de mercurio. Se han recopilado archivos de datos de las posiciones de las líneas de más de 40 elementos. El archivo de cada elemento contiene las longitudes de onda de hasta diez líneas y las coordenadas x y y de cada una de estas líneas espectrales con respecto a las coordenadas de la línea de mercurio. Raramente el recalibrado de la base de datos es necesario, a me-

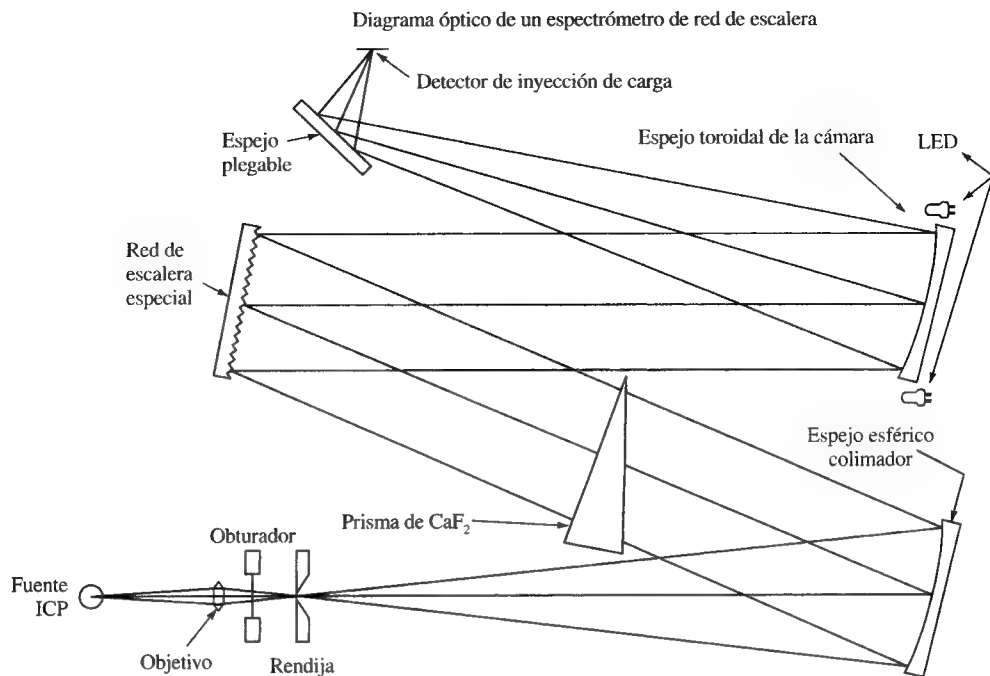


Figura 10-9. Diagrama óptico de un espectrómetro de escalera con un detector de inyección de carga. (De R. B. Bilhorn y M. B. Denton; Appl. Spectrosc., 1990, 44, 1615. Reproducción autorizada.)

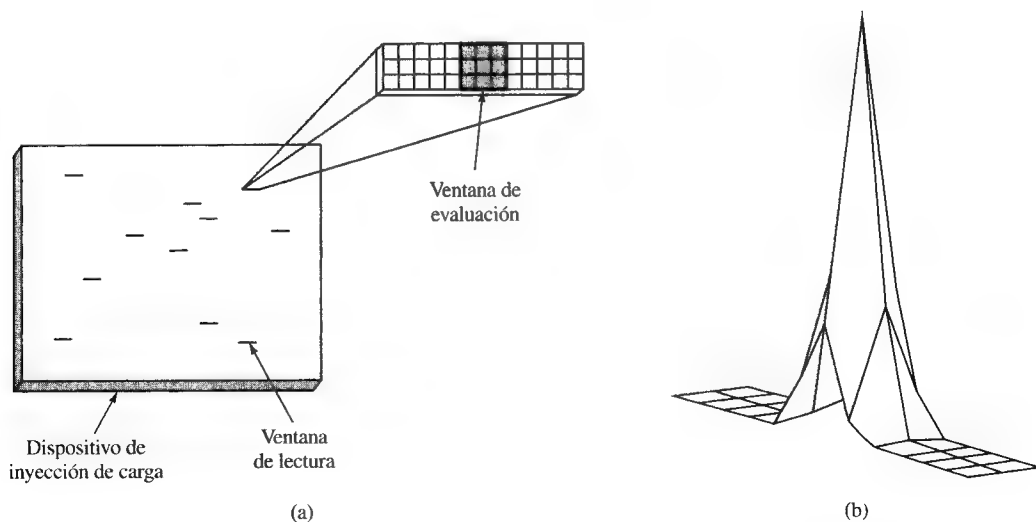


Figura 10-10. (a) Representación esquemática de la superficie de un dispositivo de inyección de carga. Las líneas horizontales cortas representan las «ventanas de lectura». También se muestra una imagen ampliada de una de las ventanas de lectura. Los nueve elementos centrales forman la «ventana de evaluación» donde se sitúa una línea. (b) Perfil de intensidad de una línea de hierro. Toda la radiación de la línea incide sobre la ventana de evaluación de 3×3 . (De R. B. Bilhorn y M. B. Denton; Appl. Spectrosc., 1990, 44, 1540. Reproducción autorizada.)

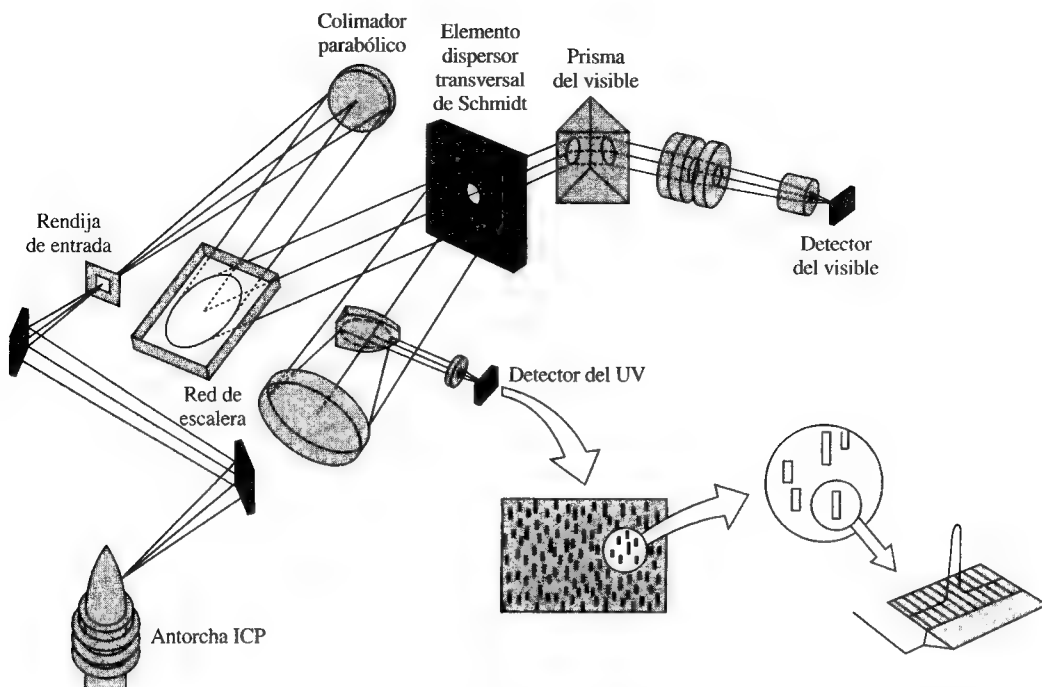


Figura 10-11. Espectrómetro de escalera con dispositivos segmentados de acoplamiento de carga en serie. (De T. W. Barnard y col., *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 1232. Reproducción autorizada.)

nos que algo perturbe significativamente la óptica del sistema. La identificación de los elementos en la muestra se realiza por revisión mediante un monitor de vídeo y unos señalizadores interactivos. Se han publicado límites de detección que se hallan en un intervalo que abarca desde unas pocas décimas hasta 10^4 nanogramos por mililitro para la mayoría de los elementos, utilizando una fuente de excitación de ICP. Para los no metales, como el fósforo y el arsénico, los límites de detección son mayores, multiplicados por un factor de 100.

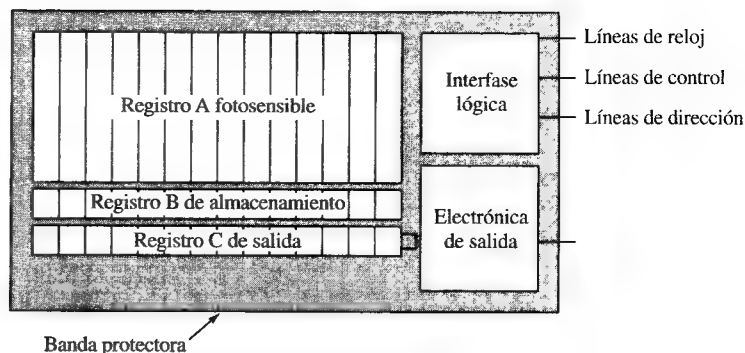
Instrumentos de acoplamiento de carga. La Figura 10-11 muestra el diagrama óptico de un espectrómetro comercial recientemente desarrollado con dos sistemas de red de escalera y dos detectores de acoplamiento de carga; uno de los sistemas está diseñado para la región de 160 a 375 nm y el otro para la región de 375 a 782 nm¹³. Después de entrar en el espectrómetro a través de una rendija, la radiación se dispersa por medio de una red de escalera. La radiación incide en un elemento dispersor transversal de Schmidt, el cual separa los

órdenes de la radiación ultravioleta y también separa el haz de radiación ultravioleta del haz de radiación visible. El elemento de Schmidt consiste en una red tallada sobre una superficie esférica, que tiene un orificio en el centro para que la radiación visible lo atraviese y pase al prisma, donde tiene lugar la separación de sus órdenes, como se ilustra en la Figura 7-21. Los dos haces dispersados se focalizan entonces sobre la superficie de los elementos de detección, como se muestra. Obsérvese que la representación esquemática de la superficie del detector del ultravioleta se muestra ampliada en la Figura 10-11.

Estos sistemas detectores únicos constan de numerosas subseries, o *segmentos en serie*, fabricados en un chip de silicio, con cada subserie generalmente situada de tal manera que tres a cuatro líneas de emisión principales de cada uno de los 72 elementos incida dentro de su superficie. Cada segmento en serie consta de un transductor de acoplamiento de carga *lineal* (más que bidimensional) que está formado por 20 a 80 pixels. La Figura 10-12 es un esquema de uno de estos segmentos en serie, que está constituido por registros fotosensibles individuales, registros de almacenamiento y de salida, y salida electrónica. Puesto que

¹³ Para una descripción detallada de este instrumento, véase T. W. Barnard y col., *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 1225, 1231.

Figura 10-12. Esquema de un segmento en serie en el que se muestran los fotodetectores, los registros OCD y los circuitos de lectura. (De T. W. Barnard y col., *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 1232. Reproducción autorizada.)



cada segmento en serie puede direccionarse por separado, los tiempos de integración de la carga se pueden variar a lo largo de un intervalo lo suficientemente amplio para obtener unos intervalos dinámicos de 10^5 o superiores. Aunque sólo hay 224 de estos segmentos en serie en el sistema, múltiples líneas inciden en muchas de las subseries, de manera que varios miles de líneas pueden controlarse simultáneamente.

Espectrómetros de transformada de Fourier

Al comienzo de la década de los ochenta, diversos investigadores describieron distintas aplicaciones de los instrumentos de transformada de Fourier en la región del espectro ultravioleta/visible, utilizando instrumentos con un diseño similar a los instrumentos de infrarrojo que se describen con detalle en el Apartado 16C-1¹⁴. La mayor parte de estos trabajos se dedicaron al uso de estos instrumentos para el análisis multielemental con fuentes de plasma de acoplamiento inductivo. Las ventajas de los instrumentos de transformada de Fourier incluyen la cobertura de un amplio intervalo de longitudes de onda (de 170 nm a más de 1.000 nm), rapidez, elevada resolución, gran exactitud en las medidas de longitud de onda, amplio intervalo útil, tamaño compacto y gran óptica utilizada. Sin embargo, a diferencia de los instrumentos de transformada de Fourier que trabajan en la región del infrarrojo, los instrumentos de este tipo en el ultravioleta/visible, frecuentemente, no ofrecen grandes ventajas y, sobre todo, en determinadas condiciones presentan múltiples desventajas (véase la página 195). La razón de esta diferencia se debe a que el funcionamiento de los instrumentos en el infra-

rojo se encuentra normalmente limitado por el ruido del detector, mientras que los espectrómetros en el ultravioleta/visible están limitados por el ruido de disparo y el ruido de parpadeo asociados con la fuente.

El espectrómetro de transformada de Fourier en el ultravioleta/visible apareció por primera vez en el mercado a mediados de los años ochenta¹⁵. Sin embargo, las exigencias mecánicas requeridas para conseguir una buena resolución con este tipo de instrumentos son muy elevadas. En consecuencia, estos espectrómetros son muy caros y se utilizan sobre todo en proyectos de investigación más que en aplicaciones analíticas de rutina.

10A-4. Aplicaciones de las fuentes de plasma¹⁶

Las fuentes de plasma son ricas en líneas de emisión características, lo que hace que sean útiles para el análisis elemental tanto cualitativo como cuantitativo. Resulta incuestionable que las fuentes de plasma de acoplamiento inductivo y de corriente continua proporcionan datos analíticos cuantitativos mucho mejores que otras fuentes de emisión. La calidad de estos resultados radica en su gran estabilidad, bajo ruido, poca radiación de fondo y la

¹⁵ Véase *Anal. Chem.*, **1985**, 57, 276A; D. Snook y A. Griilo, *Amer. Lab.*, **1986**, (11), 28; F. L. Boudais y J. Buija, *Amer. Lab.*, **1985**, (2), 31.

¹⁶ Para una discusión interesante de las aplicaciones de las fuentes de emisión de plasma, véase *Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy*, Partes I y II, P. W. J. M. Boumans, Ed. New York: Wiley-Interscience, 1987; G. A. Meyer y P. N. Keliher, en *Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectroscopy*, 2.^a ed., Capítulo 10, A. Montaser y D. W. Golightly, Eds. New York: VCH Publishers, 1992; M. Thompson y J. N. Walsh, *Handbook of Inductively Coupled Plasma Spectrometry*, 2.^a ed. Glasgow: Blackie, 1989.

¹⁴ A. P. Thorne, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 57A; L. M. Faires, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 1023A.

ausencia de interferencias cuando se trabaja en unas condiciones experimentales apropiadas. Con respecto a los límites de detección, el funcionamiento de la fuente de plasma de acoplamiento inductivo es algo mejor que el de la fuente de plasma de corriente continua. Sin embargo, esta última cuesta menos comprarla y mantenerla, y para muchas aplicaciones analíticas resulta totalmente satisfactoria.

Preparación de la muestra

La espectroscopia de emisión de plasma de acoplamiento inductivo se utiliza principalmente para el análisis cualitativo y cuantitativo de muestras que están disueltas o en suspensión en disolventes acuosos u orgánicos. Los métodos para la preparación de dichas disoluciones son similares a los descritos en el Apartado 9D-1 para los métodos de absorción atómica de llama. Sin embargo, con los de emisión de plasma, existe la posibilidad de analizar directamente muestras sólidas. Para ello se utilizan procedimientos de vaporización electrotérmica, ablación por láser o por chispa y descarga luminiscente; todos ellos descritos en el Apartado 8C-2. Las suspensiones de sólidos en disoluciones pueden también manipularse con un nebulizador tipo Babbington, como el que se muestra en la Figura 8-9d.

Elementos susceptibles de determinación

En principio, se pueden determinar todos los elementos metálicos por espectrometría de emisión de plasma. Para la determinación de boro, fósforo, nitrógeno, azufre y carbono se necesita un espectrómetro de vacío, porque las líneas de emisión de estos elementos se encuentran por debajo de 180 nm, zona en la que absorben los componentes atmosféricos. Su utilidad para el análisis de metales alcalinos se encuentra limitada por dos razones: (1) las condiciones de trabajo que pueden adaptarse para la determinación de la mayoría de los otros elementos no son adecuadas para los metales alcalinos, y (2) las líneas más intensas del Li, K, Rb y Cs se sitúan en longitudes de onda del infrarrojo cercano, lo que conduce a problemas de detección con muchos espectrómetros de plasma que están diseñados principalmente para la radiación ultravioleta. Debido a esta clase de problemas, la espectroscopia de emisión de plasma generalmente se limita a la determinación de aproximadamente 60 elementos.

La Figura 10-13 muestra una tabla del Sistema Periódico que indica la aplicabilidad de la espec-

trometría de emisión de plasma de acoplamiento inductivo a diversos elementos. Los límites de detección para las mejores líneas de cada elemento se indican por el grado de sombreado. El área de sombreado indica el número de líneas de cada elemento que produce un límite de detección que es hasta tres veces el límite de detección de la mejor línea. Cuantas más líneas de este tipo haya disponibles, mayor es la probabilidad de poder encontrar una línea útil que esté libre de interferencias, cuando la matriz produce un espectro rico en líneas.

Selección de la línea analítica

Un examen de la Figura 10-13 muestra que la mayoría de los elementos tienen varias líneas significativas que se pueden utilizar para su identificación y cuantificación. En varias publicaciones se puede encontrar, para más de 70 elementos, información sobre las líneas más significativas, indicando su longitud de onda con tres cifras decimales y su intensidad¹⁷. Generalmente se puede encontrar una línea adecuada para la determinación de cualquier elemento. La selección dependerá de los elementos que se hallen en la muestra y de la posibilidad de solapamiento de líneas.

Curvas de calibrado

Las curvas de calibrado en espectrometría de emisión de plasma consisten la mayoría de las veces en una representación gráfica de la intensidad de corriente o de la tensión de salida del detector en función de la concentración del analito. Cuando el intervalo de concentración es grande, se utiliza en su lugar una gráfica de log-log. La Figura 10-14 muestra unas curvas de calibrado típicas para cuatro elementos traza presentes en muestras de acero. Con frecuencia, las curvas de calibrado son lineales, como las dos curvas centrales de la figura. Sin embargo, se encuentran desviaciones de la linealidad cuando se cubren intervalos grandes de concentración (véase las dos rectas exteriores de la Figura 10-14). La principal causa de la no linealidad es la autoabsorción, en la que la señal de salida disminuye como consecuencia de la absorción por parte de átomos no excitados del medio. La autoab-

¹⁷ Véase R. K. Winge, V. A. Fassel, V. J. Peterson y M. A. Floyd, *Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy: An Atlas of Spectral Information*. New York: Elsevier, 1985; P. W. J. M. Boumans, *Line Coincidence Tables for Inductively Coupled Plasma Spectrometry*, 2.^a ed. Oxford: Pergamon, 1984; C. C. Wohlers, *ICP Information Newslett.*, 1985, 10, 601.

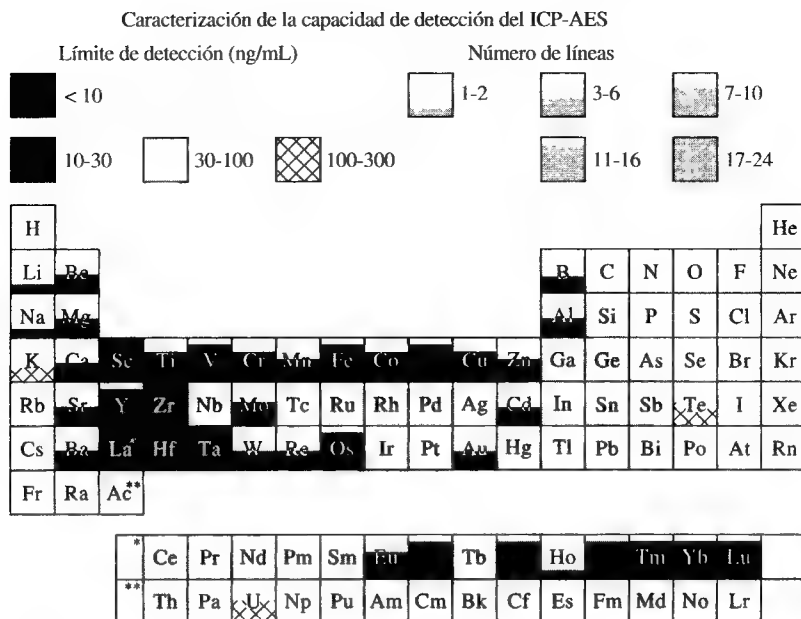


Figura 10-13. Tabla del Sistema Periódico en el que se muestra la capacidad de detección y el número de líneas de emisión útiles de ICP utilizando un nebulizador neumático. El grado de sombreado indica el intervalo de los límites de detección para las líneas útiles. El área de sombreado indica el número de líneas útiles. (*Adaptado de Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy, Parte 1, pág. 143, P. W. J. M. Boumans, Ed. New York, Wiley, 1987. Reproducción autorizada.*)

sorción sólo comienza a ser evidente a elevadas concentraciones del analito y origina que la curva de calibrado se curve hacia el eje de abscisas. Ninguna de las representaciones gráficas de la Figura 10-14 muestra autoabsorción. La no linealidad surge también de correcciones del fondo erróneas y de respuestas no lineales de los sistemas de detección. La no linealidad de las curvas del niobio y del talio a concentraciones bajas son, probablemente, consecuencia de correcciones incorrectas del fondo. Obsérvese que las desviaciones de la linealidad se alejan siempre del eje que representa la concentración.

Frecuentemente se utiliza un patrón interno en la espectrometría de emisión. En este caso, el eje de ordenadas de la curva de calibrado representa la relación o el logaritmo de la relación de la señal del detector para el analito respecto a la del patrón interno. La Figura 10-15 muestra las curvas de calibrado para varios elementos. En estos experimentos, se añade una cantidad constante de itrio a todos los patrones, y la intensidad relativa de la línea del analito respecto a la línea del itrio a 242,2 nm sirve como parámetro analítico. Hay que destacar que las curvas son todas lineales y que cubren un inter-

valo de concentración de casi tres órdenes de magnitud. Obsérvese, además, que algunos de los datos se obtuvieron introduciendo distintas cantidades del analito y del patrón interno en agua pura. Otros datos son de disoluciones que contienen concentraciones relativamente elevadas de diferentes sales, demostrando así la inexistencia de interferencias interelementales.

Como en espectroscopia de absorción atómica, uno o más patrones deberían introducirse periódicamente para corregir los efectos de deriva instrumental. La mejora en la precisión que se obtiene con este procedimiento se recoge en los datos de la Tabla 10-2. Obsérvese que también la precisión se mejora cuando se miden concentraciones elevadas de analito¹⁸.

Interferencias

En las fuentes de plasma, las interferencias químicas y de matriz son significativamente menores que con otros atomizadores, tal como se ha subra-

¹⁸ Para una discusión detallada de la precisión en la espectrometría ICP, véase R. L. Watters Jr., *Amer. Lab.*, 1983, 15 (3), 16.

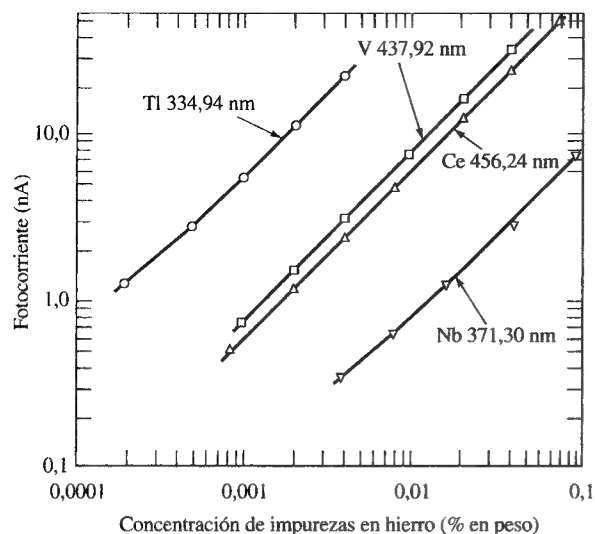


Figura 10-14. Curvas de calibrado características. (De V. A. Fassel y R. N. Kniseley, *Anal. Chem.*, **1974**, 46, 1117 A. Reproducción autorizada.)

yado anteriormente. Sin embargo, a concentraciones bajas de analito, la emisión de fondo debida a la recombinación de iones de argón con electrones es lo suficientemente intensa como para requerir correcciones cuidadosas. Con los instrumentos monocanal, esta corrección se consigue de forma adecuada a partir de las medidas realizadas a ambos lados del pico. Muchos instrumentos multicanal están equipados con elementos ópticos que permiten correcciones similares.

Dado que los espectros de ICP para muchos elementos son muy ricos en líneas, se producen interferencias espectrales debido a solapamiento de líneas. Evitar este tipo de error requiere conocer todos los componentes que previsiblemente están presentes en la muestra y estudiar con detalle la

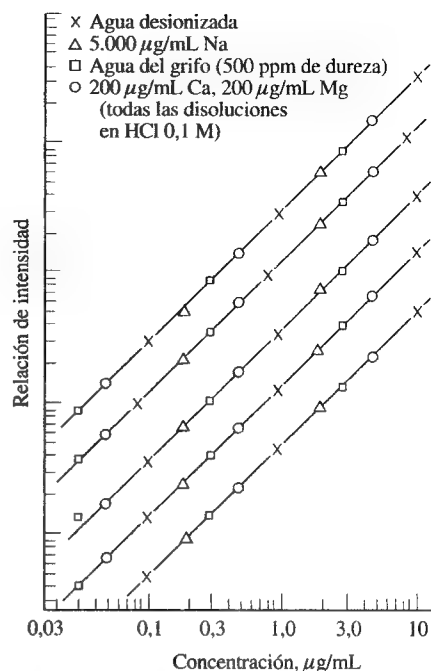


Figura 10-15. Curvas de calibrado utilizando una fuente de plasma de acoplamiento inductivo. En este caso, una línea de itrio a 242,2 nm sirve de patrón interno. Obsérvese la escasez de interferencias interelementales. (De V. A. Fassel, *Science*, **1978**, 202, 187. Reproducción autorizada. Copyright 1978 por la American Association for the Advancement of Science.)

información recogida en los trabajos citados en la nota número 16 a pie de página.

Límites de detección

Por lo general, los límites de detección obtenidos con la fuente de plasma de acoplamiento inductivo son comparables o mejores que los que proporcionan otros procedimientos espectrales atómicos. En la Tabla 10-3 se comparan estos límites con los de algu-

TABLA 10-2. Efecto de la frecuencia de estandarización sobre la precisión de los datos en ICP*

Frecuencia de recalibración, h	Desviación estándar relativa, %			
	Múltiplo de la concentración por encima del límite de detección			
	10 ¹ a 10 ²	10 ² a 10 ³	10 ³ a 10 ⁴	10 ⁴ a 10 ⁵
0,5	3-7	1-3	1-2	1,5-2
2	5-10	2-6	1,5-2,5	2-3
8	8-15	3-10	3-7	4-8

* Datos de: R. M. Barnes, en *Applications of Inductively Coupled Plasmas to Emission Spectroscopy*, R. M. Barnes, Ed., pág. 16, Philadelphia: The Franklin Institute Press, 1978. Reproducción autorizada.

TABLA 10-3. Comparación de los límites de detección de algunos métodos espectrales atómicos*

Método	Número de elementos detectado a una concentración de				
	<1 ppb	1-10 ppb	11-100 ppb	101-500 ppb	>500 ppb
Emisión de plasma de acoplamiento inductivo	9	32	14	6	0
Emisión atómica de llama	4	12	19	6	19
Fluorescencia atómica de llama	4	14	16	4	6
Absorción atómica de llama	1	14	25	3	14

* Los límites de detección corresponden a una señal que es dos veces más grande que la desviación estándar del ruido de fondo. Datos resumidos con la autorización de V. A. Fassel y R. N. Kniseley, *Anal. Chem.*, **1974**, 46(13), 1111A. Copyright 1974 de la American Chemical Society.

nos de esos métodos. Es de destacar que para niveles de diez partes por billón o menos se pueden detectar más elementos mediante excitación con plasma que con otros métodos de emisión o absorción.

cidad entre los electrodos a través de este pequeño espacio proporciona la energía necesaria para atomizar la muestra y producir átomos o iones en estado electrónico excitado.

10B. ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN CON FUENTES DE ARCO Y CHISPA

Las espectroscopias con fuentes de arco y de chispa fueron los primeros métodos instrumentales más utilizados en el análisis. Estas técnicas, que empezaron a sustituir en los años veinte a los métodos gravimétricos y volumétricos clásicos para el análisis elemental, están basados en la obtención mediante excitación del espectro de emisión de los elementos por medio de arcos eléctricos o chispas eléctricas. Estos espectros permiten la determinación cualitativa y cuantitativa de elementos metálicos en varios tipos de muestras, incluyendo metales, aleaciones, suelos, minerales y rocas¹⁹. Las fuentes de arco y chispa todavía encuentran un uso considerable en análisis cualitativo y semicuantitativo, sin embargo, en análisis cuantitativos han sido notablemente desplazados por los métodos de plasma.

En las fuentes de arco y chispa, la excitación de la muestra se produce en el pequeño espacio existente entre un par de electrodos. El paso de electri-

10B-1. Tipos de muestra y manipulación de la muestra

Actualmente, los métodos con fuentes de arco o de chispa se aplican principalmente al análisis elemental de muestras sólidas, ya que las muestras líquidas o gaseosas se manipulan mucho mejor por espectrometría de emisión de plasma, que ya se ha descrito en los apartados anteriores.

Muestras metálicas

Si la muestra es un metal o una aleación, uno o ambos electrodos se pueden preparar fresando, torneando o vertiendo el metal fundido en un molde. Idealmente, el electrodo se conformará como una varilla cilíndrica de 3 a 6 mm de diámetro y con uno de sus extremos de forma cónica. Para algunas muestras, es más conveniente emplear la superficie plana pulimentada de un trozo grande del metal como uno de los electrodos y tomar una varilla de grafito o de metal como el otro. Cualquiera que sea la forma final de la muestra se debe procurar evitar la contaminación de la superficie durante su preparación.

Muestras sólidas no metálicas

En el caso de materiales no metálicos, la muestra se coloca a menudo sobre un electrodo cuyo espectro de emisión no interfiera en el análisis. Los electrodos de carbono son ideales para muchas aplica-

¹⁹ Para detalles adicionales, véase R. D. Sacks, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.^a ed., P. J. Elving, E. J. Meehan e I. M. Kolthoff, Eds., Parte I, Vol. 7, Capítulo 6. New York: Wiley, 1981; P. W. J. M. Boumans en *Analytical Emission Spectroscopy*, Vol. 1, Parte I, E. L. Grove, Ed. New York: Marcel Dekker, 1972; J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, Capítulo 9. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1988.

ciones. El carbono puede obtenerse con una pureza muy elevada, es un buen conductor, posee una buena resistencia al calor y se moldea fácilmente. Los fabricantes ofrecen electrodos de carbono de muchos tipos, tamaños y formas. Habitualmente, uno de los electrodos tiene forma cilíndrica con un pequeño cráter abierto en uno de los extremos, en el cual se introduce la muestra finamente pulverizada. El otro electrodo es, en general, una varilla de carbono de forma cónica, con la punta ligeramente redondeada. Esta configuración proporciona el arco o la chispa más estables y reproducibles. La Figura 10-16 ilustra algunas de las formas de electrodos más comunes.

Otro método que se usa con frecuencia para la atomización de muestras pulverizadas consiste en la compactación (*briquetting*) o peletización (formación de gránulos esféricos o cilíndricos: *pelleting*) de la muestra. En este caso, la muestra finamente triturada se mezcla con una cantidad relativamente grande de polvo de grafito, cobre u otra sustancia conductora y compresible. La mezcla resultante se comprime a elevada presión para darle la forma de un electrodo.

10B-2. Instrumentos para la espectroscopia con fuentes de arco y de chispa

Las fuentes de arco y de chispa, debido a su inestabilidad, requieren integrar las señales de emisión durante al menos 20 s, y a menudo, durante un minuto o más, para obtener datos analíticos reproducibles. Este requisito hace que el empleo de espectrómetros secuenciales, como los descritos en el Apartado 10A-3, no sea práctico para la mayoría de las aplicaciones, y exige el uso de instrumentos

multicanal simultáneos. Se han aplicado dos tipos de instrumentos multicanal a la espectroscopia de arco y de chispa: (1) espectrógrafos, que se explicarán brevemente en el apartado siguiente, y (2) espectrómetros multicanal, como los descritos en el Apartado 10A-3.

Espectrógrafos

A comienzos de los años treinta, los principales laboratorios industriales de todo el mundo utilizaron la espectroscopia de emisión de arco y de chispa para el análisis elemental de materias primas, productos intermedios y productos terminados. En esos primeros años, el único instrumento disponible para este tipo de análisis era el *espectrógrafo*, en el que la detección y el registro de la radiación dispersada se realizaba mediante una película o placa fotográfica situada en el plano o curva focal de un monocromador.

La Figura 10-17 muestra un esquema de un espectrógrafo de emisión, que emplea una red cóncava para dispersar la radiación de la fuente. Generalmente, la placa fotográfica o el soporte de la película (la cámara) están dispuestos de tal manera que se puedan mover verticalmente para poder registrar sucesivamente varios espectros (véase la Figura 10-18a, b y c).

Una emulsión fotográfica puede servir como sistema de detección para registrar, amplificar e integrar la emisión de una línea espectral. Cuando una partícula de haluro de plata de la emulsión absorbe un fotón de radiación, la energía radiante se convierte en una imagen latente. El tratamiento de la emulsión con agentes reductores produce la formación de numerosos átomos de plata por cada fotón absorbido. Este proceso constituye un ejemplo de amplificación química. El número de partículas negras de plata y, por tanto, el grado de ennegrecimiento de cualquier región expuesta en una emulsión, es una función de la intensidad de la radiación que incide en esa región integrada durante el tiempo de exposición.

La principal desventaja de los espectrógrafos es el tiempo que necesita para registrar y analizar los espectros. Estas operaciones incluyen la exposición de la placa o la película fotográfica mientras las muestras y los patrones están siendo excitados, la eliminación de la emulsión en un cuarto oscuro, donde se revelará, fijará, lavará y secará, y posteriormente el examen de la placa o la película expuesta en un dispositivo comparador que

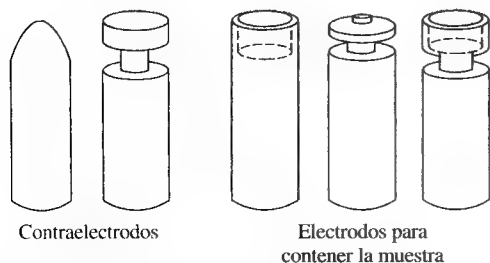
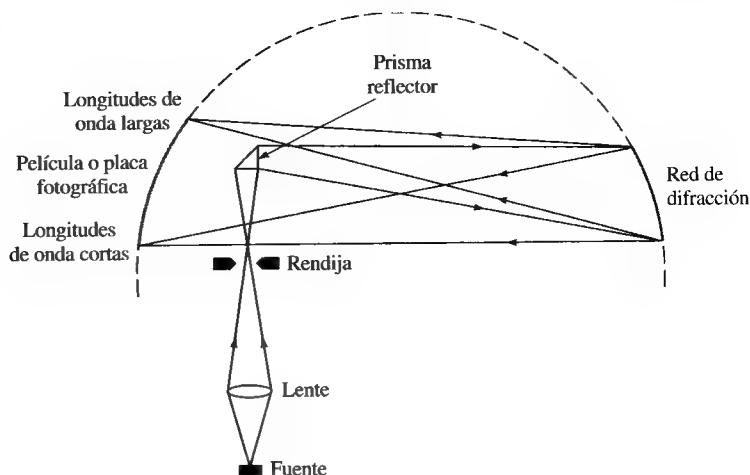


Figura 10-16. Algunas formas características de los electrodos de grafito. Los cuellos estrechos son para reducir la conductividad térmica.

Figura 10-17. Montaje de Eagle para un espectrógrafo de red.



permite la identificación de las líneas. Este proceso necesita frecuentemente horas para completarse. Si se necesita un análisis cuantitativo, todavía se amplía más el tiempo de análisis, ya que se debe establecer la relación entre la intensidad relativa de la radiación que incide en una región dada de la emulsión y el grado de ennegrecimiento resultante. Este proceso, denominado *curva de calibrado en la placa*, debe realizarse regularmente, ya que la pendiente y el corte en ordenadas de la curva de calibrado resultante varía de un lote

de emulsión a otro, así como las condiciones utilizadas para su revelado. La curva de calibrado también depende de la longitud de onda, de manera que varias regiones de la placa o de la película pueden requerir un calibrado.

Espectrómetros fotoeléctricos multicanal

Instrumentos multicanal con fotomultiplicadores. En la industria metalúrgica, siempre ha habido la necesidad imperiosa de disponer de un método lo suficientemente rápido como para determinar la cantidad de varios metales en muestras y ajustar la composición de la mezcla fundida antes de ser vertida. Ésta y otras necesidades en las que se requiere rapidez hicieron que, en la década de los años treinta, se desarrollaran y difundieran ampliamente los policromadores fotoeléctricos, como el que aparece en la Figura 10-8. Estos instrumentos son grandes y a menudo poco versátiles, porque el cambio de posición de las rendijas y de los fotomultiplicadores para ajustarse a los distintos grupos de elementos consume tiempo y, además, en algunos instrumentos no es posible realizarlo en el laboratorio de los propios usuarios. No obstante, una vez que un instrumento de este tipo se ha ajustado y calibrado, es capaz de determinar en pocos minutos 20 elementos o más con una exactitud razonable. Por todo ello, el empleo de estos instrumentos se limita a situaciones en las que hay una gran demanda de análisis rutinarios de muestras similares. En las industrias metalúrgicas, las fuentes de chispa se emplean generalmente para la excitación de muestras y producen resultados notable-

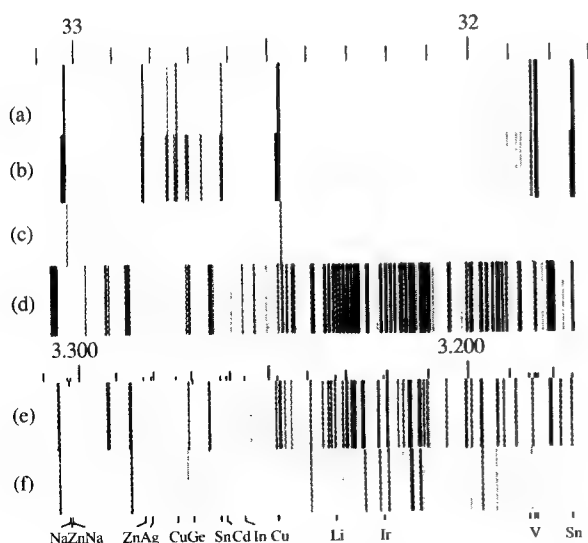


Figura 10-18. Espectros proyectados por un densitómetro-comparador: (a), (b) y (c) espectros de la muestra en tres exposiciones diferentes; (d) espectro del hierro en la placa de la muestra; (e) y (f) espectros del hierro en la placa maestra.

mente precisos y exactos, con desviaciones estándar relativas de pocas unidades porcentuales o incluso menores.

Instrumentos multicanal con dispositivos de transferencia de carga. Recientemente han aparecido en el mercado espectrómetros que ofrecen la versatilidad de los espectrógrafos con registro fotográfico y la rapidez y precisión de los espectrómetros equipados con numerosos fotomultiplicadores. Estos instrumentos son los espectrómetros multicanal que utilizan detectores de transferencia de carga, como los que se ilustran en las Figuras 10-9 y 10-11. Estos instrumentos inicialmente fueron diseñados para trabajar con fuentes de plasma, sin embargo, actualmente se han utilizado también con fuentes de arco y de chispa.

10B-3. Espectroscopia de emisión con fuente de arco

La fuente de arco usual para un análisis espectroquímico está constituida por un par de electrodos de grafito o de metal separados unos pocos milímetros. El arco se enciende mediante una chispa de baja intensidad de corriente que provoca la formación momentánea de iones que transforman en conductor el espacio entre los electrodos; una vez iniciado el arco, la ionización térmica mantiene la corriente. Alternativamente, puede iniciarse el arco juntando los electrodos para producir el calor necesario para la ionización; luego, se separan a la distancia deseada.

En un arco característico, se utilizan intensidades de corriente de 1 a 30 A. Una fuente de corriente continua tiene por lo general una tensión de circuito abierto de unos 200 V; y una fuente de arco de corriente alterna trabaja en un intervalo de alta tensión de 2.200 a 4.400 V o en un intervalo de baja tensión de 100 a 400 V. En ambos tipos, el arco se extingue al final de cada mitad del ciclo. En el tipo de alta tensión, el arco se vuelve a encender espontáneamente; en el arco de baja tensión, se vuelve a encender por medio de la descarga de una chispa de baja intensidad de corriente.

Características de las fuentes de arco

La electricidad se produce en un arco mediante el movimiento de los electrones y los iones que se forman por ionización térmica; la elevada tempera-

tura que se produce es el resultado de la resistencia de los cationes a este movimiento en el espacio donde se produce el arco. Por tanto, la temperatura del arco depende de la composición del plasma, que a su vez depende de la velocidad de formación de partículas atómicas a partir de la muestra y de los electrodos. La temperatura característica del plasma es de 4.000 a 5.000 K.

Los espectros obtenidos en un típico arco son ricos en líneas intensas en el caso de átomos y contienen un número menor de líneas en el caso de especies iónicas. Es de destacar que en las colecciones de datos de líneas espectrales, las longitudes de onda van seguidas con frecuencia por I, II y III para indicar la fuente de la línea, esto es, átomo neutro, ion con una sola carga e ion con dos cargas, respectivamente.

Bandas espectrales debidas al cianógeno. Cuando con un electrodo de carbono o grafito se produce el arco en una atmósfera de aire, se emiten unas bandas intensas debidas a la presencia de radicales de cianógeno (CN), que hacen que la mayor parte de la región comprendida entre 350 y 420 nm no se pueda utilizar para el análisis elemental. Desafortunadamente, varios elementos tienen sus líneas más sensibles en esta región. Para evitar o minimizar esta interferencia, la excitación con arco se realiza en una atmósfera controlada de dióxido de carbono, helio o argón. Sin embargo, aun en estas condiciones, la banda de emisión de CN no se elimina del todo, a no ser que se calienten los electrodos a vacío para eliminar el nitrógeno adsorbido.

Velocidad de emisión. Se ha demostrado experimentalmente que la velocidad a la que las especies se volatilizan y se excitan difiere considerablemente de unas a otras. Los espectros de algunas especies aparecen pronto y después desaparecen a medida que la muestra se consume; los espectros de otras especies alcanzan su máxima intensidad a tiempos mayores. Por ello, es necesario integrar las señales de emisión durante un minuto o más. Para muestras pulverizadas, la señal para las líneas de varios elementos generalmente surge rápidamente durante este período y luego disminuye hasta cero cuando las especies desaparecen por la vaporización. Debido a este comportamiento, las muestras pulverizadas a menudo se queman hasta que se consumen por completo; las señales de salida integradas sirven como variables analíticas.

Aplicaciones de las fuentes de arco

Las fuentes de arco son particularmente útiles para el análisis cualitativo y semicuantitativo de muestras no metálicas, como suelos, muestras vegetales, rocas y minerales. Normalmente, los tiempos de excitación y las corrientes del arco se ajustan de tal manera que se produzca la volatilización completa de la muestra; son habituales las corrientes de 5 a 30 A durante 20 a 200 s. Normalmente de 2 a 50 mg de muestra en forma de polvo, pequeños trozos, molienda o limaduras, se mezclan con una cantidad pesada de grafito y se introducen en la cavidad de los electrodos de grafito. Generalmente, el electrodo portamuestras hace de ánodo y el segundo contraelectrodo de grafito actúa de cátodo.

En análisis cualitativo y semicuantitativo de muestras no rutinarias, todavía se utiliza de manera habitual el registro fotográfico. Se pueden obtener varios espectros en una placa moviendo verticalmente la cámara tras cada excitación. Generalmente, se registran también uno o más espectros del hierro, para alinear la placa o la película con una placa maestra que muestra la localización de las líneas características.

La Figura 10-18 muestra el aspecto de un grupo de espectros de arco típicos proyectados al lado de un espectro de referencia en un densitómetro/comparador. La región de longitudes de onda estudiada va desde aproximadamente 3.170 a 3.310 Å. Los tres espectros superiores corresponden a una muestra durante tres exposiciones distintas. El cuarto espectro pertenece a un electrodo de hierro que se obtuvo inmediatamente después de las tres primeras exposiciones. Los dos espectros de la parte inferior son espectros del hierro en la placa maestra. La identificación de los elementos se puede llevar a cabo tras alinear las líneas del hierro en la placa maestra con las correspondientes líneas de la placa de la muestra. Normalmente, la identificación positiva de un elemento requiere la concordancia de varias líneas. Hay que señalar que las líneas moderadamente intensas a aproximadamente 3.174 y 3.261 Å sugieren que la muestra contiene estaño. También parecen estar presentes en cantidades significativas cobre, cinc, y tal vez vanadio. Sin embargo, sería necesario confirmar estas conclusiones con determinaciones adicionales a otras longitudes de onda.

Se han descrito numerosos métodos espectrográficos semicuantitativos que proporcionan datos de concentración fiables dentro del intervalo del 30

al 200 por 100 respecto a la cantidad real de un elemento presente en la muestra²⁰. Dichos métodos son útiles cuando la preparación de buenos patrones es cara. Algunos de estos procedimientos se basan en la vaporización completa en el arco de una cantidad medida de muestra (1 a 10 mg). La estimación de la concentración se establece conociendo la cantidad mínima necesaria de un elemento para provocar la aparición de las distintas series de líneas. En otros métodos, se mide el ennegrecimiento de las líneas elementales y se compara con la línea de un material añadido a la matriz, o con el fondo.

La excitación con arco también se utiliza para análisis cuantitativo. Sin embargo, la precisión obtenida con el arco es significativamente más pobre que con la chispa y mucho más pobre que con el plasma o la llama. Además, las intensidades de emisión de las muestras sólidas dependen en gran medida de la muestra. Como consecuencia, es necesario igualar la matriz en los patrones y en las muestras para obtener resultados satisfactorios. Para solucionar parcialmente este problema, siempre se utiliza el método del patrón interno.

10B-4. Fuentes de chispa y espectros de chispa

Se han desarrollado diversos circuitos que producen chispas de alta tensión para espectroscopia de emisión. Se ha comprobado que una chispa intermitente que siempre se propaga en la misma dirección proporciona mayor precisión y menor deriva de la emisión radiante. Por este motivo, a menudo la tensión de la línea de corriente alterna se rectifica antes de subirla de 10 a 50 kV en una bobina. Se utiliza un conjunto de circuitos de estado sólido para el control de la frecuencia y la duración de la chispa. Por lo general, con una corriente de 60 Hz se producen cuatro descargas de chispa por cada semiciclo.

Con una chispa de alta tensión, la corriente *promedio* es generalmente bastante menor que en un arco típico, siendo del orden de unas pocas décimas de amperio. Por otra parte, en la fase inicial de

²⁰ Para una descripción más detallada de los procedimientos semicuantitativos, véase C. E. Harvey, *Spectrochemical Procedures*, Capítulo 7. Glendale, CA: Applied Research Laboratories, 1950; T. Torok, J. Mika y E. Gegus, *Emission Spectrochemical Analysis*, págs. 284-308. New York: Crane Russak, 1978.

la descarga, la corriente *instantánea* puede sobrepasar los 1.000 A; en este caso, la electricidad circula por un canal estrecho que ocupa una minúscula parte del espacio total en el que se produce la chispa. La temperatura en esta región puede llegar a ser de 40.000 K. Así, mientras que la temperatura media de una fuente de chispa es mucho menor que la de un arco, la *energía* en el pequeño volumen del canal puede ser varias veces mayor. Como consecuencia, los espectros de iones son más pronunciados en una chispa de alta tensión que en un arco. Por ello, los espectroscopistas, a menudo, denominan a las líneas emitidas por los iones «líneas de chispa».

Aplicaciones de la espectroscopia con fuente de chispa²¹

Los análisis cuantitativos con chispa requieren el control preciso de muchas variables que intervienen en la preparación y excitación de la muestra, y también en el procesado de la película en los espectrógrafos. Además, las medidas cuantitativas requieren la preparación cuidadosa de una serie de patrones para el calibrado; los cuales deberían aproximarse lo más posible a la composición y propiedades físicas de las muestras a analizar. Generalmente los análisis por fuente de chispa se basan en la relación de la intensidad de la línea del analito respecto a la de una línea del patrón interno (normalmente la línea de un componente principal de la muestra). En condiciones ideales, se pueden obtener desviaciones estándar relativas de pequeño porcentaje en las medidas espectrales con fuente de chispa.

Actualmente, la principal aplicación de la espectroscopia de emisión con fuente de chispa es la identificación y análisis de metales y otros materiales conductores. Cuando hay que evitar disolver la muestra por razones de tiempo, se escoge esta técnica antes que la espectrometría de plasma. La detección se realiza normalmente con un policromador equipado con tubos fotomultiplicadores. De hecho, algunos espectrómetros multicanal modernos van equipados con fuentes intercambiables, que permiten excitar por medio de plasmas, arcos, chispas, descarga luminiscente y láseres.

Los espectrómetros con fuente de chispa, y en menor grado los de fuente de arco, se utilizan habitualmente y de manera importante en fundiciones,

fábricas, chatarrerías e industrias metalúrgicas. Los instrumentos utilizados en estas aplicaciones son con frecuencia móviles y están equipados con una pistola portátil con la fuente de arco o chispa que el operador puede poner en contacto con la superficie metálica para producir la excitación. Dichos equipos se utilizan para la identificación rápida de aleaciones y para el análisis de la mezcla fundida antes de obtener la pieza de fundición. Uno de estos instrumentos es lo suficientemente pequeño (~76 × 51 × 25 cm) y ligero (25 kg) como para que el operador sea capaz de llevarlo de un lugar a otro. Se ha diseñado para clasificar, graduar e identificar hasta 14 componentes en aceros.

10C. FUENTES MISCELÁNEAS PARA ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN ÓPTICA

En este apartado se estudian tres fuentes de emisión más que tienen un uso menor que las fuentes de plasma, arco y chispa que ya se han descrito.

10C-1. Fuentes de emisión de llama

Durante muchos años, las llamas se han utilizado para obtener los espectros de emisión por excitación de diversos elementos, y los más modernos espectrómetros de absorción atómica están adaptados para trabajar en la modalidad de emisión de llama. Sin embargo, las llamas no se utilizan mucho para esto, ya que la modalidad de absorción proporciona resultados tan buenos o mejores en cuanto a exactitud, conveniencia y límites de detección para la mayoría de las determinaciones de un único elemento. Para análisis multielemental, las fuentes de plasma son bastante superiores a las llamas en la mayoría de los aspectos. Por ello, la espectrometría de emisión de llama actualmente tiene poca utilidad, excepto en la determinación de metales alcalinos y, ocasionalmente, de calcio. Estos elementos se excitan a temperaturas relativamente bajas para dar espectros que son notablemente sencillos y exentos de interferencias de otras especies metálicas. Los espectros de metales alcalinos constan de unas pocas líneas bastante intensas, muchas de las cuales se encuentran en la región del visible y que permiten perfectamente cuantificar las medidas de emisión.

²¹ Véase J. P. Walters, *Science*, **1977**, 198, 787.

Debido a esta simplicidad espectral, los fotómetros de filtros sencillos son generalmente suficientes para las determinaciones rutinarias de metales alcalinos y alcalinotérreos. Se utilizan llamas frías para eliminar la excitación de la mayoría de los otros metales. Como consecuencia, los espectros son sencillos, y se pueden utilizar filtros interferenciales para aislar la línea de emisión deseada.

Varios fabricantes de instrumentación ofrecen fotómetros de llama diseñados específicamente para la determinación de sodio, potasio y, algunas veces, calcio en sangre, suero, orina y otros fluidos biológicos. Un típico instrumento para determinar sodio y potasio es un dispositivo de tres canales, como el que aparece en la Figura 10-19. Dos de los canales transmiten una línea de sodio y una línea de potasio, respectivamente; el tercer canal es para la radiación del litio, elemento introducido como patrón interno en una cantidad fija en todas las muestras y patrones. En las muestras que contienen

litio, este tercer canal puede utilizarse para determinar la concentración de este elemento; en este caso, la intensidad relativa de línea se utiliza como parámetro analítico mejor que la relación de intensidad de línea.

En el instrumento mostrado en la Figura 10-19, la radiación procedente de la llama se divide en tres haces de igual potencia aproximadamente. Cada haz pasa a un sistema fotométrico separado, consistente en un filtro interferencial, que transmite una línea de emisión de uno de los elementos mientras que absorbe las de los otros dos, un fototubo y un amplificador. Se registra la relación de las señales de salida del detector del sodio con respecto al litio y la de potasio respecto al litio. Muchos analizadores clínicos disponen de sistemas de dilución automáticos, de manera que las muestras y los patrones se diluyen de manera idéntica con la disolución de patrón interno de litio. Periódicamente para calibrar a cero el instrumento se utiliza

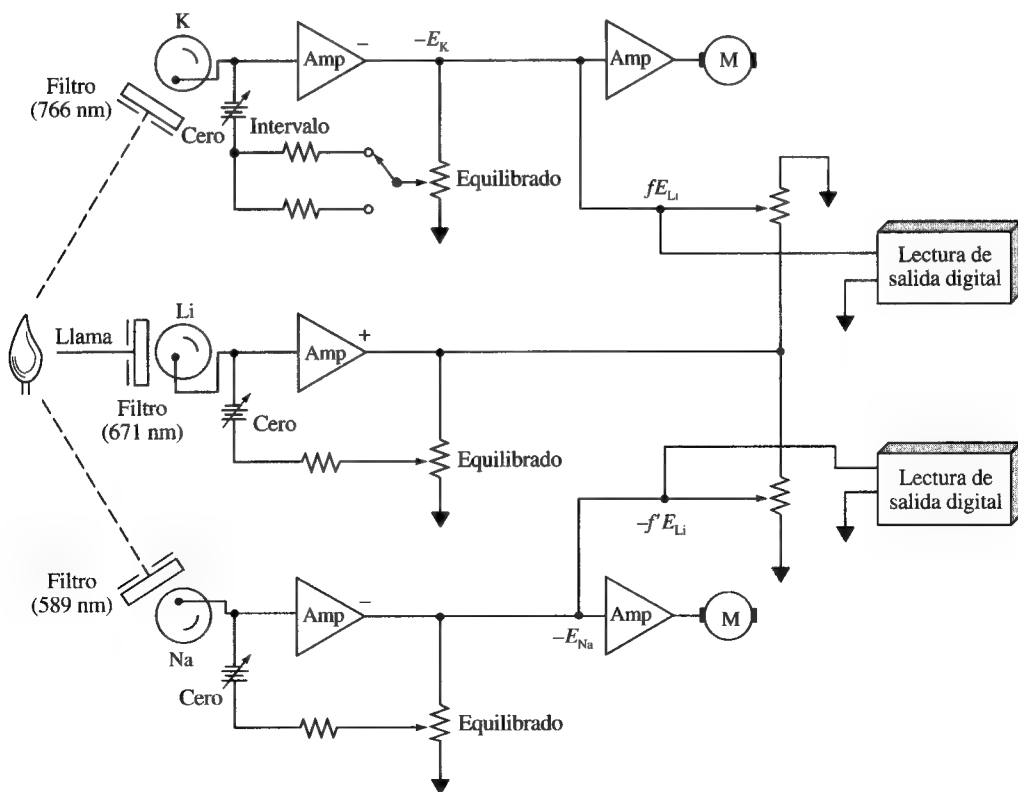


Figura 10-19. Fotómetro de tres canales para monitorizar la emisión de K, Li y Na. (De J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, pág. 254. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 1988. Reproducción autorizada.)

un blanco que contiene únicamente el patrón de litio. Se puede realizar automáticamente un calibrado de un punto o dos puntos tras haber analizado un cierto número de muestras. Los instrumentos automáticos de este tipo pueden analizar normalmente hasta 100 muestras por hora.

10C-2. Fuentes de descarga luminiscente

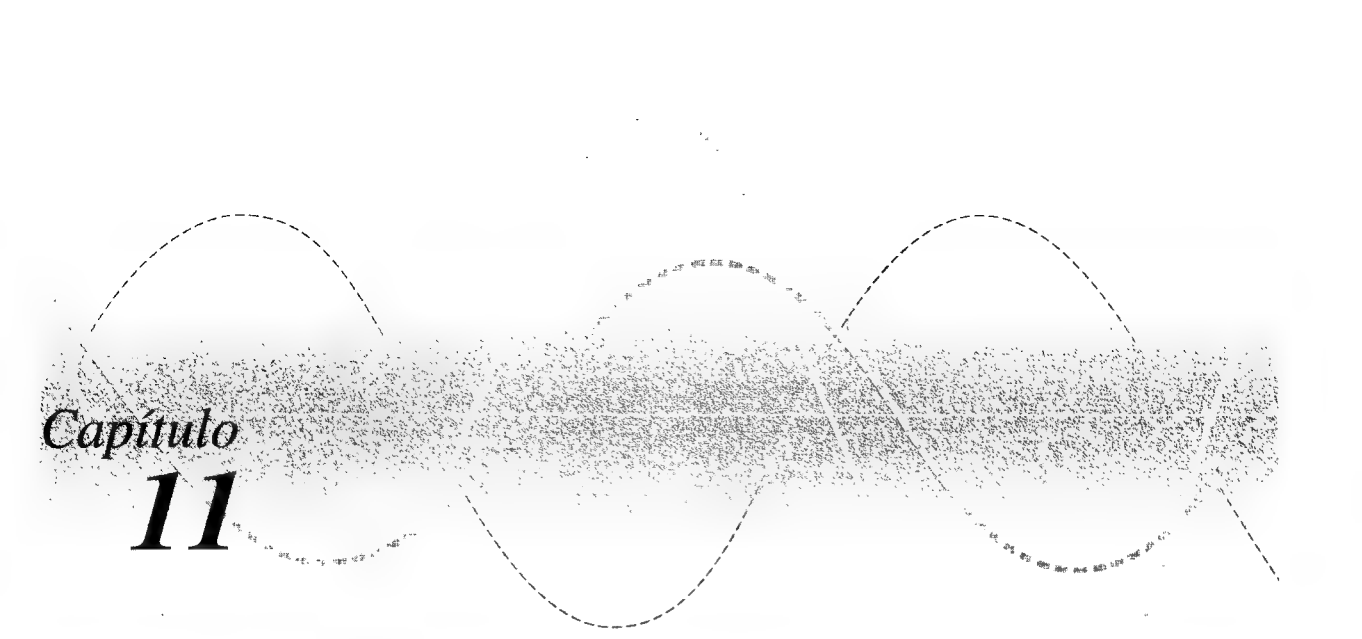
Se ha comprobado que el atomizador de descarga luminiscente descrito en el Apartado 8C-2 es una fuente adecuada para la obtención de espectros de emisión por excitación de metales, aleaciones y otros materiales sólidos. Varios fabricantes de instrumentación disponen de ella para este fin.

10C-3. Fuentes de microsonda láser

Cuando un impulso de láser de elevada potencia se focaliza en una zona de 5 a 50 μm sobre la superficie de la muestra, se vaporiza una pequeña cantidad del sólido sin tener en cuenta si es o no conductor. La nube resultante está compuesta por átomos, iones y moléculas. En la microsonda, los componentes de la nube se excitan por medio de una chispa entre un par de pequeños electrodos situados justo por encima de la superficie de la muestra. La radiación resultante se focaliza entonces sobre un sistema monocromador y detector adecuado. Con este tipo de fuente, ha sido posible determinar el contenido de elementos traza en células sanguíneas aisladas y en diminutas áreas de inclusión presentes en aleaciones.

10D. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 10-1. ¿Qué es un patrón interno y por qué se utiliza?
- 10-2. ¿Por qué los métodos de emisión atómica con una fuente de plasma de acoplamiento inductivo son más adecuados para el análisis multielemental que los métodos de absorción atómica de llama?
- 10-3. ¿Por qué predominan las líneas de iones en los espectros de chispa y las líneas de átomos en los espectros de arco y en los de plasma de acoplamiento inductivo?
- 10-4. Calcular la dispersión recíproca lineal teórica de una red de escalera que tiene una distancia focal de 0,75 m, un número de surcos de 100 surcos/mm, un ángulo de difracción de $63^\circ 26'$ cuando el orden de difracción es (a) 20 y (b) 100.
- 10-5. ¿Por qué las fuentes de arco se rodean a menudo con una corriente de gas inerte?
- 10-6. Describir tres formas de introducir la muestra en una antorcha de ICP.
- 10-7. ¿Cuáles son las ventajas y desventajas de las antorchas de ICP y de las antorchas de argón de corriente continua?
- 10-8. ¿Por qué las interferencias de ionización son menos importantes en la espectroscopia de emisión de ICP que en la espectroscopia de emisión de llama?
- 10-9. ¿Cuáles son algunas de las ventajas de las fuentes de plasma comparadas con las de llama en la espectrometría de emisión?
- 10-10. ¿Por qué el método de patrón interno se utiliza normalmente en la espectrometría de emisión de plasma?



Capítulo 11

Espectrometría de masas atómica

La espectrometría de masas atómica es una herramienta versátil y muy utilizada para identificar los elementos presentes en muestras de materia y determinar sus concentraciones¹. Casi todos los elementos del Sistema Periódico se pueden determinar por espectrometría de masas.

La espectrometría de masas atómica ofrece numerosas ventajas frente a los métodos espectrométricos ópticos atómicos, ya estudiados en profundidad. Entre estas ventajas se encuentran: (1) límites de detección que son, para muchos elementos, tres órdenes de magnitud mejores que en los métodos ópticos, (2) espectros notablemente sencillos que generalmente son únicos y con frecuencia fácilmente interpretables, y (3) capacidad para medir relaciones isotópicas atómicas. Entre las desventajas se hallan: (1) el coste del instrumento es de dos a tres veces el de los instrumentos ópticos atómicos, (2) la deriva del instrumento puede ser del 5 al

10 por 100 por hora, y (3) ciertos tipos de interferencias que se estudiarán más adelante.

11A. ALGUNOS ASPECTOS GENERALES DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS ATÓMICA

Un análisis por espectrometría de masas atómica implica las siguientes etapas: (1) atomización, (2) conversión de una fracción significativa de los átomos formados en la etapa 1 en un flujo de iones (generalmente iones positivos de una sola carga), (3) separación de los iones formados en la segunda etapa según su relación masa/carga (m/z), donde m es la masa del ion en unidades de masa atómica y z es su carga, y (4) recuento del número de iones de cada tipo o medida de la corriente iónica producida cuando los iones formados a partir de la muestra inciden en un detector adecuado. Dado que la mayoría de los iones formados en la segunda etapa tienen una sola carga, m/z habitualmente es la masa del ion. En la espectroscopia óptica atómica la primera y segunda etapas suponen las mismas técnicas explicadas en el Apartado 8C. La tercera y cuarta etapas se llevan a cabo en un espectrómetro de masas.

¹ Para una referencia general sobre espectrometría de masas atómica, véase *Inorganic Mass Spectrometry*, F. Adams, R. Gijbels y R. Van Grieken, Eds. New York: Wiley, 1988.

11A-1. Pesos atómicos en espectrometría de masas

En primer lugar, debe señalarse que los pesos atómicos utilizados en la bibliografía de espectrometría de masas, y en este capítulo, difieren de los utilizados en la mayoría de los otros métodos analíticos, ya que los espectrómetros de masas discriminan entre la masa de los isótopos, mientras que otros instrumentos analíticos generalmente no lo hacen. Por tanto, se revisarán brevemente algunos términos relacionados con los pesos atómicos y moleculares.

Los pesos atómicos y moleculares se expresan generalmente en *unidades de masa atómica* (amu), o *daltons* (Da). La unidad de masa atómica, o dalton, se establece mediante una escala relativa en la que la referencia es el isótopo del carbono ^{12}C , al cual se le asigna un masa de 12 amu exactamente. Así, *el amu, o Da, se define como 1/12 de la masa de un átomo neutro de ^{12}C* . Esta definición hace que 1 amu, o 1 Da, de carbono sea igual a

$$1 \text{ amu} = 1 \text{ Da}$$

$$\begin{aligned} &= \frac{1}{12} \left(\frac{12 \text{ g } ^{12}\text{C/mol } ^{12}\text{C}}{6,0221 \times 10^{23} \text{ átomos } ^{12}\text{C/mol } ^{12}\text{C}} \right) \\ &= 1,66054 \times 10^{-24} \text{ g/átomo } ^{12}\text{C} \\ &= 1,66054 \times 10^{-27} \text{ kg/átomo } ^{12}\text{C} \end{aligned}$$

El peso atómico de un isótopo como el $^{35}_{17}\text{Cl}$ se puede relacionar con el átomo de referencia $^{12}_6\text{C}$ comparando las masas de los dos isótopos. Dicha comparación revela que el isótopo de cloro-35 tiene una masa que es 2,91407 veces mayor que la masa del isótopo de carbono. Por tanto, la masa atómica del isótopo de cloro es

$$\begin{aligned} \text{Masa atómica del } ^{35}_{17}\text{Cl} &= 12,0000 \text{ Da} \times 2,91407 \\ &= 34,9688 \text{ Da} \end{aligned}$$

Como un mol de $^{12}_6\text{C}$ pesa 12,0000 g, el peso atómico del $^{35}_{17}\text{Cl}$ es de 34,9688 g/mol².

En espectrometría de masas, a diferencia de otros ámbitos de la Química, interesa con frecuen-

cia la *masa exacta* m de determinados isótopos de un elemento o la masa exacta de los componentes que contienen un cierto grupo de isótopos. En consecuencia, se necesita poder diferenciar entre las masas de compuestos como éstos

$$\begin{aligned} ^{12}\text{C}^1\text{H}_4 \quad m &= 12,000 \times 1 + 1,007825 \times 4 \\ &= 16,031 \text{ Da} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} ^{13}\text{C}^1\text{H}_4 \quad m &= 13,00335 \times 1 + 1,007825 \times 4 \\ &= 17,035 \text{ Da} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} ^{12}\text{C}^1\text{H}_3^2\text{H}_1 \quad m &= 12,000 \times 1 + 1,007825 \times 3 + \\ &\quad 2,0140 \times 1 \\ &= 17,037 \text{ Da} \end{aligned}$$

En espectrometría de masas, normalmente las masas exactas se expresan con tres o cuatro decimales, ya que los espectrómetros de masas de alta resolución realizan las medidas con este nivel de precisión.

En algunas circunstancias, se utilizará el término *masa nominal*, que implica una precisión de un número entero en una medida de masa. Así, las masas nominales de los tres isómeros antes citados son 16, 17 y 17 Da respectivamente.

El *peso atómico químico* o *peso atómico promedio* (A) de un elemento en la naturaleza viene dado por la ecuación

$$A = A_1p_1 + A_2p_2 + \dots + A_n p_n = \sum_{i=1}^n A_n p_n$$

donde $A_1, A_2, \dots, A_n$ son las masas atómicas, en daltons, de n isótopos de un elemento y $p_1, p_2, \dots, p_n$ son las abundancias relativas de estos isótopos en la naturaleza. El peso atómico químico es el tipo de peso que interesa a los químicos en la mayoría de los casos. El *peso molecular químico* o *promedio* de un compuesto es la suma de los pesos atómicos químicos de los átomos que aparecen en la fórmula del compuesto. Así, el peso molecular químico del CH_4 es $12,01115 + 4 \times 1,00797 = 16,0434 \text{ Da}$.

11A-2. Relación masa/carga

Otro término que se utiliza ampliamente a lo largo de este capítulo es la *relación masa/carga* de un ion atómico o molecular. Este término se obtiene dividiendo la masa atómica o molecular de un ion

² Una relación de los isótopos de todos los elementos, así como sus masas atómicas puede encontrarse en varias guías, como *Handbook of Chemistry and Physics*. 73.^a ed., págs. 11-28 a 11-132. Boca Raton, FL: CRC Press, 1992-1993.

m por el número de cargas z que tiene el ion. Así, para $^{12}\text{C}^1\text{H}_4^+$, $m/z = 16,035/1 = 16,035$. Para $^{13}\text{C}^1\text{H}_4^{2+}$, $m/z = 17,035/2 = 8,518$. Dado que en espectrometría de masas la mayoría de los iones presentan una sola carga, el término relación masa/carga se puede simplificar utilizando el término de *masa*. Estrictamente hablando, esta abreviatura no es correcta, sin embargo, se utiliza ampliamente en la bibliografía sobre espectrometría de masas.

11A-3. Tipos de espectrometría de masas atómica

La Tabla 11-1 resume los tipos más importantes de espectrometría de masas atómica. Históricamente, la espectrometría de masas de ionización térmica y la de fuente de chispa fueron los primeros métodos espectrométricos de masas desarrollados para el análisis elemental, tanto cualitativo como cuantitativo; aun hoy en día estos tipos de métodos tienen aplicación, aunque relegados por algunos de los otros métodos citados en la Tabla 11-1, particularmente por la espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo. Obsérvese que las tres primeras entradas de la tabla corresponden a *métodos acoplados*, que son combinación de dos técnicas instrumentales que producen resultados analíticos mejores que los que se obtienen con cada método por separado. Se hallarán distintos métodos acoplados en varias partes de este libro.

Antes de examinar los distintos métodos de atomización e ionización citados en la tabla, es necesario describir brevemente el modo de uso de los espectrómetros para separar y medir las especies iónicas.

11B. ESPECTRÓMETROS DE MASAS

Un espectrómetro de masas es un instrumento que separa los iones que se desplazan rápidamente según su relación masa/carga, m/z . La mayoría de los iones que se estudian presentan una sola carga, de modo que la relación es sencillamente la masa del ion. Existen varios tipos de espectrómetros de masas disponibles comercialmente. En este capítulo, se describen tres tipos que se utilizan habitualmente en espectrometría de masas atómica: *espectrómetro de masas cuadrupolar*, *espectrómetro de masas de tiempo de vuelo* y *espectrómetro de masas de doble enfoque*. En el Capítulo 20, que trata sobre la espectrometría de masas molecular, se estudian otros tipos de espectrómetros de masas. La última columna de la Tabla 11-1 indica cuál de los tres tipos de espectrómetros se utiliza habitualmente en cada tipo de espectrometría de masas atómica.

El diagrama de bloques de la Figura 11-1 muestra los principales componentes de todos los tipos de espectrómetros de masas. El objetivo del sistema de entrada es introducir una cantidad muy

TABLA 11-1. Tipos de espectrometría de masa atómica

Nombre	Acrónimo	Fuente de iones atómicos	Analizador de masas típico
Plasma de acoplamiento inductivo	ICPMS	Plasma de argón de elevada temperatura	Cuadrupolo
Plasma de corriente continua	DCPMS	Plasma de argón de elevada temperatura	Cuadrupolo
Plasma inducido por microondas	MIPMS	Plasma de argón de elevada temperatura	Cuadrupolo
Fuente de chispa	SSMS	Chispa eléctrica de radiofrecuencia	De doble enfoque
Ionización térmica	TIMS	Plasma calentado eléctricamente	De doble enfoque
Descarga luminiscente	GDMS	Plasma de descarga luminiscente	De doble enfoque
Microsonda de láser	LMMS	Haz láser focalizado	De tiempo de vuelo
Ion secundario	SIMS	Bombardeo de iones acelerados	De doble enfoque

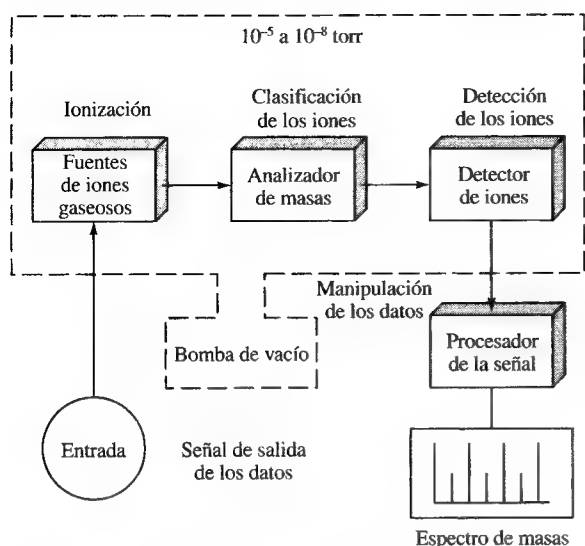


Figura 11-1. Componentes de un espectrómetro de masas.

pequeña (microgramos) de muestra en la fuente de iones, donde los componentes de la muestra se convierten en iones gaseosos mediante el bombardeo con electrones, fotones, iones o moléculas. Alternativamente, la ionización se puede conseguir con energía térmica o eléctrica. La señal de salida de la fuente de iones es un flujo de iones positivos (generalmente) o iones negativos gaseosos que son acelerados en el analizador de masas.

La función del analizador de masas es análoga a la de un monocromador en un espectrómetro óptico. En el primer caso, sin embargo, la dispersión se realiza en función de la relación masa/carga de los iones del analito, en vez de en la longitud de onda de los fotones.

Como en un espectrómetro óptico, un espectrómetro de masas contiene un detector que convierte el haz de iones en una señal eléctrica que pueda ser procesada, almacenada en la memoria de un ordenador y mostrada en pantalla o registrada de distintas formas. A diferencia de la mayoría de los espectrómetros ópticos, los espectrómetros de masas requieren un complejo sistema de vacío para mantener una baja presión en todos los componentes, salvo en el sistema de procesamiento de la señal y lectura.

En los apartados siguientes, primeramente se describirán los distintos sistemas de detección utilizados en los espectrómetros de masas. A continuación se estudiarán los tres tipos de analizadores de masas utilizados en espectrometría de masas

atómica. El Apartado 11C trata de las fuentes de iones utilizadas con más frecuencia.

11B-1. Detectores para espectrometría de masas

Existen distintos tipos de detectores para espectrómetros de masas en el comercio. El canal multiplicador de electrones es el detector de elección para la mayoría de los experimentos de rutina.

Canales multiplicadores de electrones

La Figura 11-2a es un esquema de un canal multiplicador de electrones de díodos discretos diseñado para la detección de iones positivos. Este detector se parece mucho a un fotomultiplicador para radiación ultravioleta/visible, cada dínodo se mantiene a un potencial más alto que el anterior. El cátodo y los distintos dínodos tienen superficies de Cu/Be de las que se emiten ráfagas de electrones cuando son alcanzadas por iones o electrones de elevada energía. Existen canales multiplicadores de electrones con hasta 20 dínodos que generalmente proporcionan una ganancia de corriente de 10^7 .

La Figura 11-2b ilustra un canal multiplicador de electrones de dínodo continuo, que es un dispositivo de vidrio, con forma de trompeta, que está fuertemente dopado con plomo. Se aplica un potencial de 1,8 a 2 kV a lo largo del detector. Los iones que inciden en la superficie próxima a la entrada expulsan electrones, que luego saltan sobre toda la superficie expulsando más electrones con cada impacto. Los detectores de este tipo producen generalmente ganancias de corriente de 10^5 , pero pueden llegar a ser de 10^8 en ciertas aplicaciones.

En general, los canales multiplicadores de electrones son robustos y fiables y son capaces de proporcionar ganancias de corriente elevadas y tiempos de respuesta de nanosegundos. Estos detectores pueden situarse directamente delante de la rendija de salida de un espectrómetro de masas de sector magnético, ya que los iones que alcanzan el detector suelen tener la suficiente energía cinética como para expulsar electrones desde la primera zona del dispositivo. Los canales multiplicadores de electrones también pueden usarse con analizadores de masas que utilizan haces de iones de baja energía cinética (tales como los cuadrupolos), sin embargo, en estas aplicaciones el haz de iones que sale del analizador se acelera a varios miles de electrón-voltios antes de que incida en la primera zona.

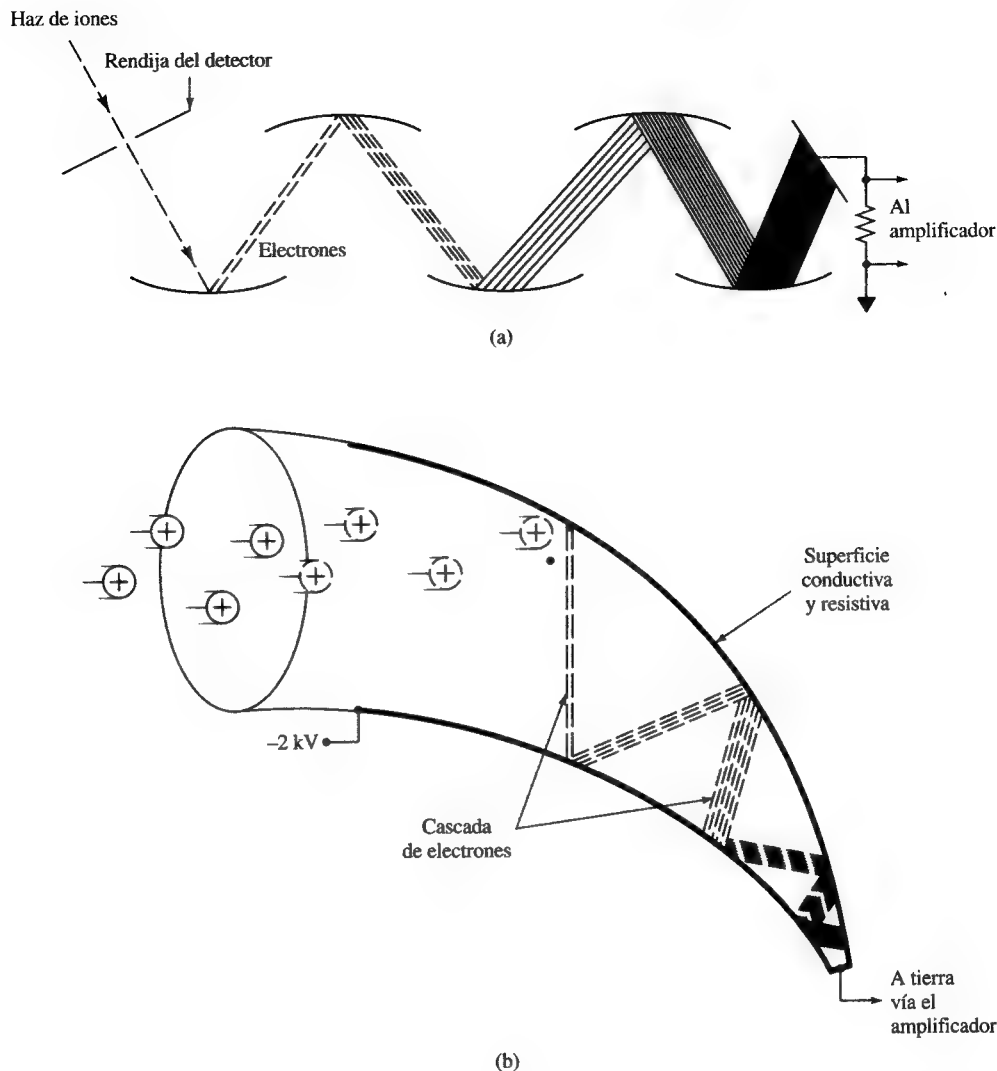


Figura 11-2. (a) Canal multiplicador de electrones de díodos discretos. Los díodos se mantienen a potenciales sucesivamente más altos mediante un divisor de tensión en múltiples etapas. (b) Canal multiplicador de electrones de díodo continuo. (Adaptado de J. T. Watson, *Introduction to Mass Spectrometry*, pág. 247. New York: Raven Press, 1985. Reproducción autorizada).

Copa de Faraday

La Figura 11-3 es un esquema de un colector de copa de Faraday. El detector está alineado de manera que los iones que salen del analizador incidan sobre el electrodo colector. Este electrodo está rodeado por una jaula que impide que escapen los iones reflejados y los electrones secundarios expulsados. El electrodo colector está inclinado respecto a la trayectoria de los iones entrantes, de forma que las partículas que incidan o abandonen el electrodo sean reflejadas hacia zonas alejadas de la entrada

de la copa. El electrodo colector y la jaula están conectadas al potencial de tierra a través de una resistencia grande. La carga de los iones positivos que inciden en la placa son neutralizados por un flujo de electrones procedentes de tierra a través de la resistencia. La caída del potencial resultante a lo largo de la resistencia se amplifica con un amplificador de alta impedancia. La respuesta de este detector es independiente de la energía, masa y naturaleza química del ion. La copa de Faraday es barata y, desde el punto de vista mecánico y eléctrico, sencilla. Su principal desventaja es la necesi-

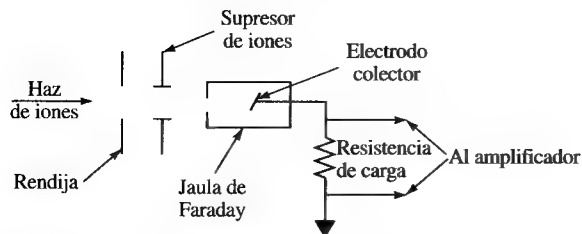


Figura 11-3. Detector de copa de Faraday. El potencial en las placas supresoras de iones se ajusta para minimizar la respuesta diferencial en función de la masa.

dad de un amplificador de alta impedancia, que limita la velocidad a la que se puede realizar el barrido del espectro. El detector de copa de Faraday es también menos sensible que los multiplicadores de electrones, porque no proporciona una amplificación interna.

Otros tipos de sistemas de detección

Las placas fotográficas recubiertas con una emulsión de bromuro de plata son sensibles a los iones de elevada energía. La detección fotográfica es más frecuente en los instrumentos de fuente de chispa, porque este tipo de detección permite la observación simultánea de un amplio intervalo de valores de m/z en instrumentos que enfocan los iones a lo largo de un plano (Fig. 11-9).

Los detectores tipo centelleo también se utilizan. Estos detectores consisten en fósforo cristalino disperso en una fina lámina de aluminio montada sobre la ventana de un tubo fotomultiplicador.

Cuando los iones (o electrones producidos cuando los iones inciden sobre el cátodo) chocan contra el fósforo, producen destellos de luz, que son detectados por el fotomultiplicador.

11B-2. Analizador de masas cuadrupolar

La Figura 11-4 muestra el analizador de masas cuadrupolar que es el tipo más común de espectrómetro de masas utilizado en espectroscopia de masas atómica. Este instrumento es más compacto, más barato y más robusto que cualquier otro tipo de espectrómetro de masas. También presenta la ventaja de su elevada velocidad de barrido, de manera que se puede obtener un espectro de masas completo en menos de 100 ms³.

El corazón de un instrumento cuadrupolar es el conjunto de las cuatro barras cilíndricas paralelas que actúan como electrodos. Las barras opuestas se conectan eléctricamente, un par está unido al polo positivo de una fuente variable de corriente continua y el otro par se une al terminal negativo. Además, se aplican a cada par de barras potenciales variables de corriente alterna de radiofrecuencia, que están desfasados 180 grados. Para obtener un espectro de masas con este dispositivo, los iones se aceleran en el espacio entre las barras mediante un potencial de 5 a 10 V. Entre tanto, las tensiones de corriente continua y de corriente alterna se in-

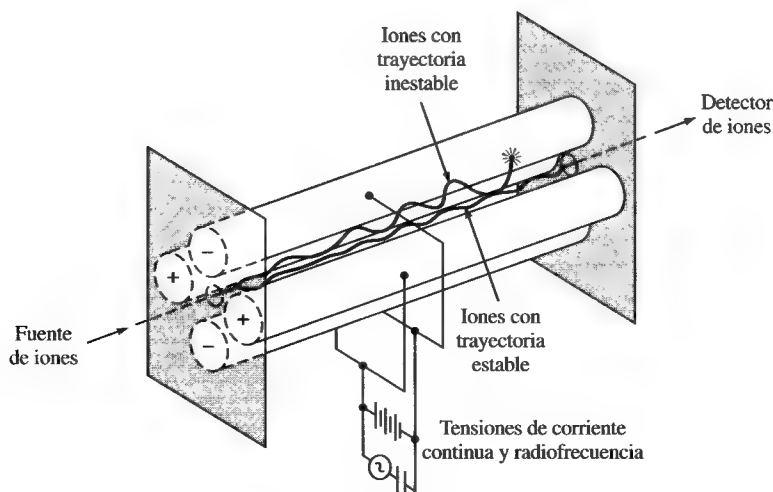


Figura 11-4. Espectrómetro de masas cuadrupolar.

³ P. E. Miller y M. B. Denton, *J. Chem. Educ.*, 1986, 63, 617.

crementan simultáneamente, mientras se mantiene constante su relación. En cualquier momento, todos los iones excepto aquellos que tengan un determinado valor de m/z inciden en las barras y se convierten en moléculas neutras. Por tanto, sólo los iones cuyo valor de m/z esté dentro de un intervalo limitado alcanzarán al detector. Generalmente, los instrumentos cuadrupolares separan fácilmente iones que difieren en su masa en una unidad.

Obsérvese que un espectrómetro de masas de cuadrupolo es más parecido a un fotómetro óptico de filtros de banda variable que a un espectrómetro óptico en el que la red dispersa simultáneamente un espectro de radiación electromagnética. Por ello, sería mejor referirse a este dispositivo como un filtro de masas más que como un espectrómetro de masas. Sin embargo, esta última denominación se utiliza mucho en la bibliografía y se seguirá en este capítulo y en el Capítulo 20.

Trayectorias de los iones en un cuadrupolo

Para comprender la capacidad de filtración de un cuadrupolo, es necesario considerar el efecto de los potenciales de corriente continua y de corriente alterna en la trayectoria de los iones a medida que atraviesan el canal entre las barras⁴. En principio, se centrará la atención en el par de barras positivas, que se muestran en la Figura 11-5 en el plano xz . En ausencia de un potencial de corriente continua, los iones en el canal tienden a converger en el centro del canal durante el semiciclo positivo de corriente alterna y tienden a diverger durante la mitad negativa. Este comportamiento se muestra en los puntos A y B de la figura. Si durante el semiciclo negativo un ion choca contra la barra, la carga positiva se neutralizará, y la molécula resultante se expulsará. El que un ion positivo choque o no contra la barra depende de la velocidad de movimiento del ion a lo largo del eje z , su relación masa/carga y la frecuencia y magnitud de la señal de corriente alterna.

Ahora se considerará el efecto de un potencial positivo de corriente continua que se superpone a una señal de corriente alterna. De acuerdo con la

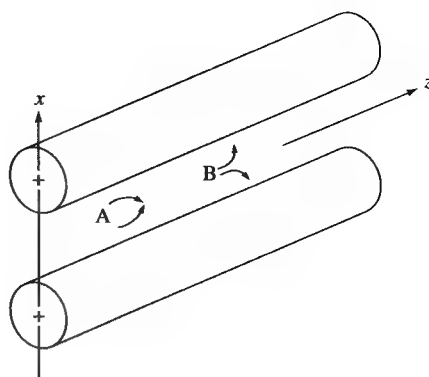


Figura 11-5. Funcionamiento de un cuadrupolo en el plano xz . A: los iones se focalizan hacia el eje z ; B: los iones son atraídos hacia las barras x .

física newtoniana, el momento de los iones de igual energía cinética es directamente proporcional a la raíz cuadrada de su masa. Por ello, es más difícil desviar un ion más pesado que uno más ligero. Si un ion presente en el canal es pesado y/o la frecuencia del potencial de corriente alterna es grande, el ion no responderá significativamente al potencial alterno y estará influido en gran medida por el potencial de corriente continua. En estas circunstancias, el ion tenderá a permanecer en el espacio entre las barras. Por el contrario, si el ion es ligero y/o la frecuencia es baja, el ion puede chocar contra la barra y ser eliminado durante la fase negativa del potencial de corriente alterna. Así, como se muestra en la Figura 11-6a, el par positivo de barras forman un filtro de paso alto de masas para iones positivos que se desplazan por el plano xz .

Ahora se considerará el par de barras que se mantienen a un potencial negativo de corriente continua. En ausencia de un potencial de corriente alterna, todos los iones positivos tenderán a ser atraídos hacia las barras, donde serán eliminados. Sin embargo, en los iones más ligeros este movimiento se puede compensar mediante el recorrido del potencial de corriente alterna. De este modo, como se muestra en la Figura 11-6b, las barras del plano yz funcionan como un filtro de paso bajo.

Para que un ion se desplace a través del cuadrupolo hasta el detector, debe tener una trayectoria estable en ambos planos xz e yz . Así, el ion debe ser lo suficientemente pesado para que no sea eliminado por el filtro de masas de paso alto en el plano xz y debe ser lo suficientemente ligero para no ser eli-

⁴ La explicación de los filtros de masas cuadrupolares que a continuación se detalla se basa en gran medida en P. E. Miller y M. B. Denton, *J. Chem. Educ.*, **1986**, 63, 617. Véase también R. E. Marchand y R. J. Hughes, *Quadrupole Storage Mass Spectrometry*. New York: Wiley, 1989; J. J. Leary y R. L. Schmidt, *J. Chem. Educ.*, **1996**, 73, 1142.

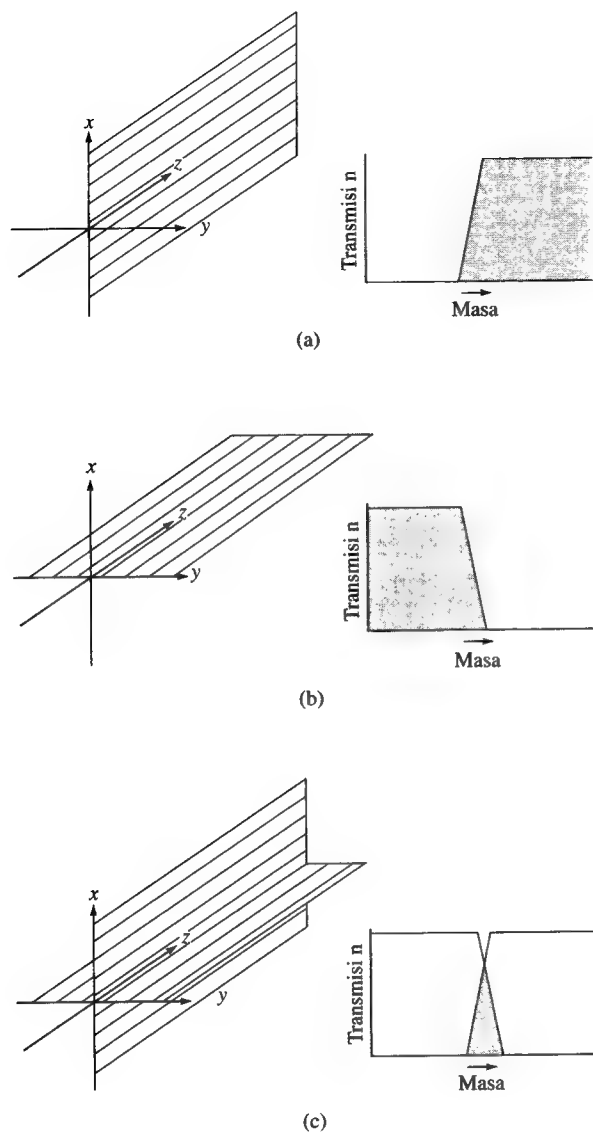


Figura 11-6. El cuadrupolo funciona como (a) un filtro de paso alto de masas en el plano xz , (b) un filtro de paso bajo de masas en el plano yz y (c) un filtro de banda estrecha cuando operan simultáneamente los filtros de paso alto y de paso bajo. (Reproducción autorizada por P. E. Miller y M. B. Denton, *Anal. Chem.*, **1986**, 63, 619. Copyright 1986 por la American Chemical Society).

minado por el filtro de masas de paso bajo en el plano yz . Por tanto, como se muestra en la Figura 11-6c, el cuadrupolo total transmite una banda de iones que tiene un intervalo limitado de valores de m/z . El centro de esta banda se puede variar ajustando los potenciales de corriente continua y de corriente alterna.

Barrido con un filtro cuadrupolar

Las ecuaciones diferenciales que se necesitan para describir el comportamiento de los iones de diferente masa en un cuadrupolo son complejas y difíciles de tratar analíticamente y se escapan del objetivo de este libro. Sin embargo, estas ecuaciones revelan que las oscilaciones de las partículas cargadas en un cuadrupolo caen dentro de dos categorías: (1) aquellas cuyas oscilaciones son finitas y (2) aquellas cuyas oscilaciones crecen exponencialmente y finalmente se aproximan al infinito. Las variables que aparecen en estas ecuaciones son la relación masa/carga, el potencial de corriente continua, la frecuencia y magnitud del potencial de corriente alterna y la distancia entre las barras. La resolución del cuadrupolo se determina por la relación entre los potenciales de corriente alterna y continua y llega a ser máxima cuando esta relación es ligeramente inferior a 6. De esta forma, los espectrómetros cuadrupolares funcionan con una relación de potenciales constante de este valor.

Para hacer un barrido de un espectro de masas con un instrumento cuadrupolar, los potenciales de corriente alterna V y de corriente continua U se incrementan simultáneamente desde cero hasta un valor máximo manteniéndose su relación ligeramente inferior a 6. Los cambios en el potencial durante un barrido típico se muestran en la Figura 11-7. Las dos líneas rectas divergentes muestran la variación en los dos potenciales de corriente continua en función del tiempo. El tiempo para un solo barrido es de unos pocos milisegundos. En tanto que los potenciales de corriente continua varían de cero a aproximadamente ± 250 V, las señales de corriente alterna aumentan linealmente de cero a 1.500 V aproximadamente. Obsérvese que las señales de corriente alterna están desfasadas 180 grados.

Distintos fabricantes de instrumentación comercializan espectrómetros de masas cuadrupolares con intervalos de hasta 3.000 a 4.000 m/z . Estos instrumentos resuelven fácilmente iones que difieren en su masa en una unidad. Generalmente, los instrumentos de cuadrupolo están equipados con una abertura circular, en vez de una rendija (véase Fig. 11-4), para introducir la muestra en la región dispersante. La apertura proporciona una cantidad de muestra mucho mayor que la que pueden tolerar los instrumentos de sector magnético, en los que la resolución está inversamente relacionada con la anchura de la rendija.

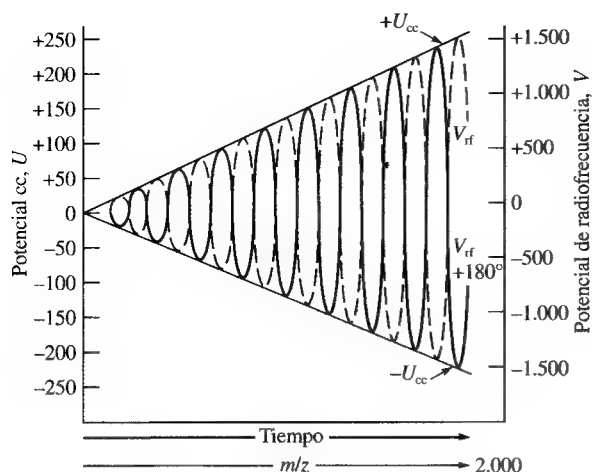


Figura 11-7. Relaciones de potencial durante un barrido de masas con un analizador cuadrupolar.

11B-3. Analizador de masas de tiempo de vuelo

En los instrumentos de tiempo de vuelo (TOF), los iones positivos se producen periódicamente mediante el bombardeo de la muestra con impulsos cortos de electrones, iones secundarios o fotones generados por láser. Estos impulsos suelen tener frecuencias de 10 a 50 kHz y un tiempo de vida de $0,25 \mu\text{s}$. Los iones producidos de esta manera son acelerados después mediante un impulso de campo eléctrico de 10^3 a 10^4 V que tiene la misma frecuencia que el impulso de ionización, pero desfasada. Las partículas aceleradas pasan al *tubo analizador* de aproximadamente un metro de longitud y que no está sometido a ningún campo (Fig. 11-8). Debido a que todos los iones que entran en el tubo

idealmente tienen la misma energía cinética, sus velocidades dentro del tubo deben variar inversamente con sus masas, llegando al detector antes las partículas más ligeras que las más pesadas. Los tiempos de vuelo habituales son de 1 a $30 \mu\text{s}$.

El detector de un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo suele ser un multiplicador de electrones cuya señal de salida está conectada a las placas de desviación verticales de un osciloscopio mientras el barrido horizontal se sincroniza con los impulsos aceleradores; así, en la pantalla del osciloscopio aparece casi instantáneamente la imagen del espectro de masas. Los tiempos de vuelo típicos son del orden de un microsegundo, por lo que se necesita una electrónica muy rápida para la adquisición digital de los datos. Variaciones en la energía de los iones y en las posiciones iniciales de los mismos causan un ensanchamiento de los picos que suelen limitar la resolución obtenida.

Desde el punto de vista de la resolución y de la reproducibilidad, los instrumentos que emplean separadores de tiempo de vuelo no son tan satisfactorios como aquellos que utilizan separadores magnéticos o cuadrupolares. Sin embargo, algunas ventajas compensan, en parte, estas limitaciones; entre ellas, la sencillez, la robustez, facilidad de accesibilidad a la fuente de iones, un intervalo de masas virtualmente ilimitado y rapidez en la adquisición de datos. En la actualidad varios fabricantes de instrumentación ofrecen instrumentos de tiempo de vuelo, pero no son tan utilizados como los espectrómetros de masas cuadrupolares.

⁵ W. N. Delgass y R. G. Cook, *Science*, **1987**, 235, 545.

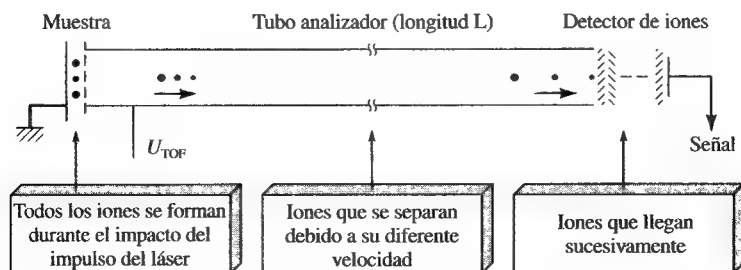


Figura 11-8. Fundamento de un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo. Un haz de iones producido por una sonda láser es acelerado hacia el tubo analizador, donde se produce la separación. (De A. H. Verbueken, F. J. Bruynseels, R. Van Grieken y F. Adams, en *Inorganic Mass Spectrometry*, pág. 186. F. Adams, R. Gijbels y R. Van Grieken, Eds. New York: Wiley, 1988. Reproducción autorizada).

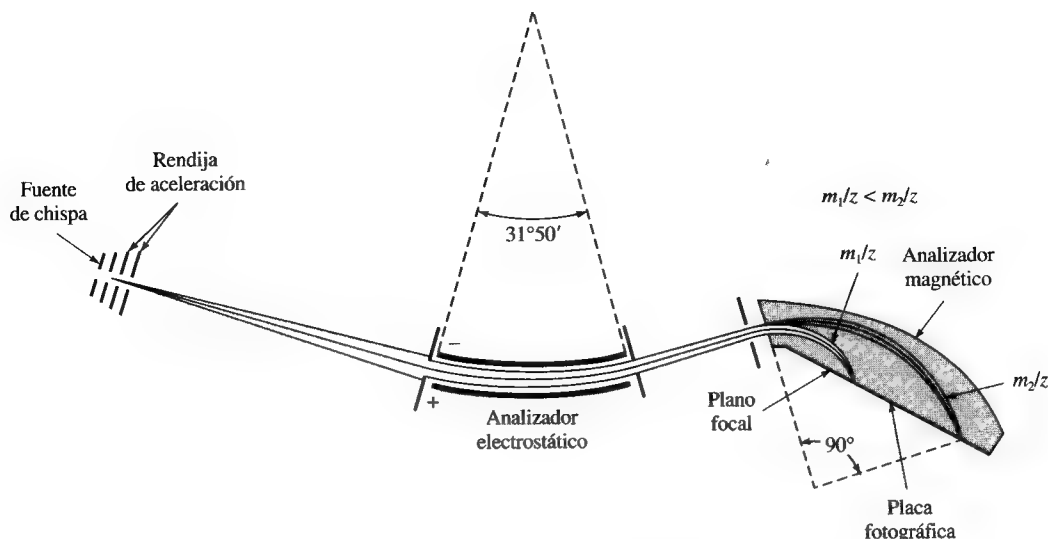


Figura 11-9. Espectrómetro de masas de doble enfoque tipo Mattauch-Herzog. Se ha conseguido una resolución $>10^5$ con instrumentos basados en este diseño.

11B-4. Analizadores de doble enfoque

Como se muestra en la Figura 11-9, un espectrómetro de masas de doble enfoque contiene dos dispositivos para enfocar un haz de iones: un *analizador electrostático* y un *analizador de sector magnético*. En este instrumento, los iones que proceden de la fuente son acelerados a través de una rendija en la que un campo electrostático curvado sirve para enfocar un haz de iones que tiene una banda estrecha de energías cinéticas sobre una rendija que conduce a un campo magnético curvado. En este campo, los iones más ligeros son los que más se desvían y los iones más pesados, los que menos. Los iones dispersados inciden sobre una placa fotográfica y, por tanto, se registran. Un estudio detallado de cómo funcionan los analizadores electrostáticos y magnéticos se halla en el Apartado 20C-3. Como se muestra en la Tabla 11-1, los analizadores de este tipo se utilizan en varios tipos de espectrometría de masas atómica.

una de las técnicas más importantes para el análisis elemental, debido a sus bajos límites de detección para la mayoría de los elementos, su alto grado de selectividad y su razonable buena precisión y exactitud⁶. En estas aplicaciones, una antorcha de ICP sirve como atomizador e ionizador. La introducción de la muestra en forma de disolución se realiza mediante un nebulizador convencional o ultrasónico. Para sólidos, se puede emplear una de las otras técnicas de introducción de la muestra tratadas en el Apartado 8C-2, como la ablación por chispa o por láser o la descarga luminiscente. Desde 1983 se encuentran en el mercado versiones comerciales de instrumentos para estas distintas técnicas. En estos instrumentos, los iones positivos de metales, producidos en una antorcha de ICP convencional, se introducen a través de una interfase de vacío diferencial unida a un espectrómetro de masas cuadrupolar. Los espectros producidos de esta manera, que son notablemente más sencillos que los espectros ópticos de ICP convencionales, consisten en una serie sencilla de picos de isótopos de cada elemento presente. Estos espectros se utili-

11C. ESPECTROMETRÍA DE MASAS CON PLASMA DE ACOPLAMIENTO INDUCTIVO

Desde principios de los años ochenta, la espectrometría de masas-plasma de acoplamiento inductivo (ICPMS) se ha desarrollado hasta convertirse en

⁶ Para una descripción más detallada de esta técnica, véase K. E. Jarvis, A. L. Gray y R. S. Houk, *Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*. New York: Chapman and Hall, 1992; *Inductively Coupled Mass Spectrometry*, 2.^a ed., A. Montaser y D. W. Golightly, Eds. New York: VCH Publishers, 1992; R. S. Houk, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 97A; J. W. Olesik, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 12A; N. P. Vela, L. K. Olson y J. A. Caruso, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 585A.

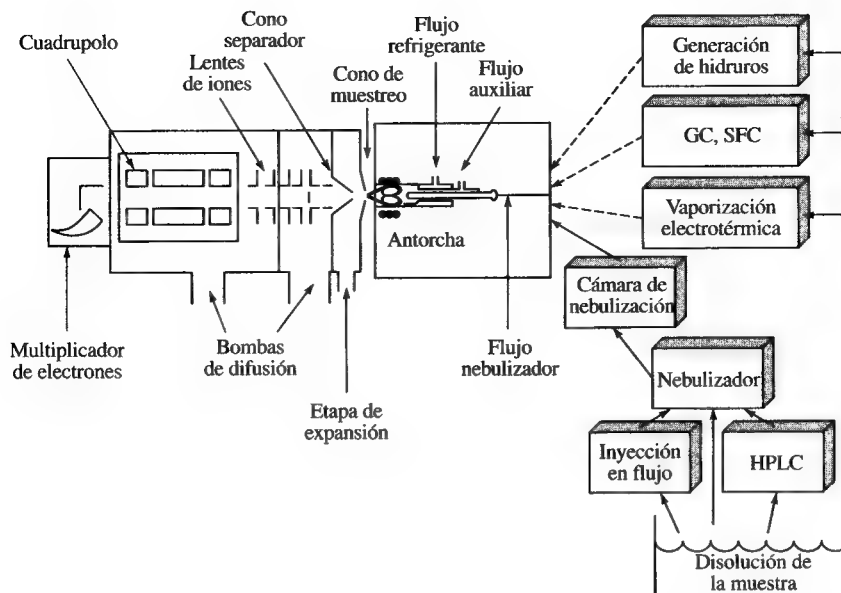


Figura 11-10. Esquema de un sistema ICPMS. Las líneas discontinuas muestran la introducción de muestras gaseosas; las líneas continuas muestran la introducción de muestras líquidas. (De N. P. Vela, L. K. Olson y J. A. Caruso, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 587A. Reproducción autorizada).

zan para la determinación cualitativa de los elementos presentes en la muestra y para su medida cuantitativa. Esta última se suele realizar mediante curvas de calibrado en las que se representa el cociente entre el recuento de iones para el analito respecto del recuento para un patrón interno en función de la concentración. Los análisis también se pueden realizar mediante la técnica de dilución isotópica, que se describe con detalle en el Apartado 32D.

11C-1. Instrumentos para ICPMS⁷

La Figura 11-10 muestra esquemáticamente los componentes de un equipo de ICPMS. Una parte crítica del instrumento es la interfase que acopla la antorcha de ICP, que trabaja a presión atmosférica, con el espectrómetro de masas, que requiere una presión inferior a 10^{-4} torr. Esto se efectúa mediante un acoplador de interfase de vacío diferencial que consiste en un *cono de muestreo*, que es un cono de níquel refrigerado por agua que tiene un pequeño orificio (<1,0 mm) en su centro. El plasma caliente se transmite a través de este orificio a una

región que se mantiene a una presión de aproximadamente 1 torr por medio de una bomba mecánica. En esta región, se produce una expansión rápida del gas, que produce su enfriamiento. Una fracción del gas en esta región pasa a través de un pequeño agujero a un segundo cono denominado *separador* (*skimmer*) y a una cámara mantenida a la presión del espectrómetro de masas. Aquí los cationes se separan de los electrones y de las especies moleculares mediante un potencial negativo, y son acelerados y enfocados mediante una lente magnética de iones hacia el orificio de entrada de un analizador de masas cuadrupolar.

Las especificaciones de trabajo de los espectrómetros de masas atómicos comerciales equipados con una antorcha de ICP corresponden a un intervalo de masas de 3 a 300, la capacidad de separar iones que se diferencian en una m/z de tan sólo una unidad y con un intervalo dinámico de 6 órdenes de magnitud. Alrededor del 90 por 100 de los elementos del Sistema Periódico se determinan con este tipo de instrumento. Para la mayoría de los elementos, se consiguen tiempos de medida de 10 s por elemento, con límites de detección de 0,1 a 10 ppb. Se han publicado desviaciones estándar relativas del 2 al 4 por 100 para concentraciones en las regiones medias de las curvas de calibrado.

⁷ Para una descripción de once instrumentos comerciales, véase A. Newman, *Anal. Chem.*, **1996**, 69, 46A.

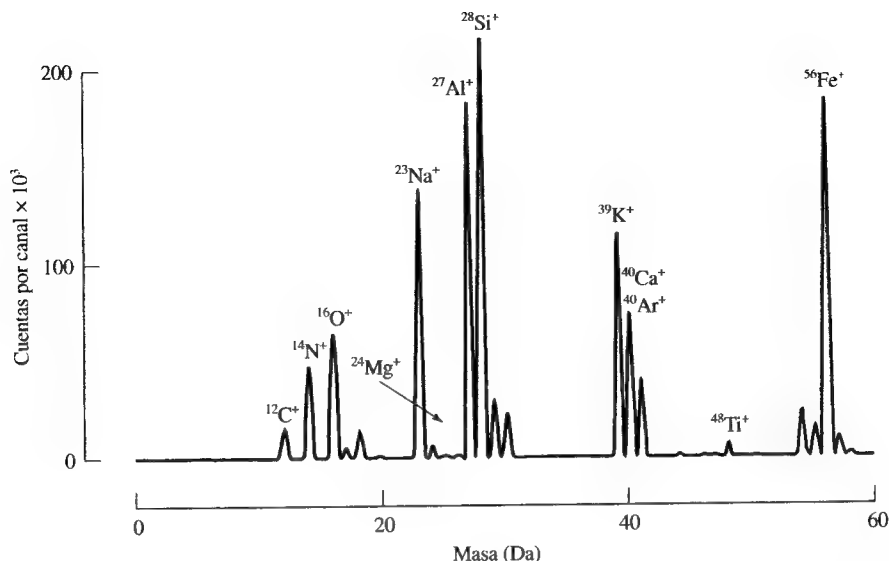


Figura 11-11. Espectro de una muestra de roca patrón obtenido por ablación por láser/ICPMS. Componentes mayoritarios (%): Na, 5,2; Mg, 0,21; Al, 6,1; Si, 26,3; K, 5,3; Cu, 1,4; Ti, 0,18; Fe, 4,6. (*De Inorganic Mass Spectrometry*, F. Adams, R. Gijbels y R. Van Grieken, Eds., pág. 297. New York: Wiley, 1988. Reproducción autorizada).

Recientemente, al menos dos fabricantes de instrumentación han acoplado sistemas de muestreo por láser a ICPMS creando instrumentos diseñados para el análisis elemental de muestras sólidas con una mínima preparación de la muestra⁸. En ellos, los haces de láser pulsantes se focalizan sobre unos pocos micrómetros cuadrados de un sólido, obteniéndose densidades de potencia de 10^{12} W/cm². Dicha radiación de elevada intensidad vaporiza rápidamente la mayoría de los materiales, incluso los refractarios. Posteriormente, un flujo de argón conduce la muestra vaporizada a la antorcha de ICP, donde tienen lugar la atomización y la ionización. A continuación el plasma resultante pasa al espectrómetro de masas. Instrumentos de este tipo son particularmente adecuados para el análisis semicuantitativo de muestras que son difíciles de descomponer o disolver, como los materiales geológicos, aleaciones, vidrios, productos agrícolas, partículas en suspensión y suelos. La Figura 11-11 es un espectro de masas de una muestra de una roca patrón obtenido por ablación por láser/ICPMS. Para obtener este espectro, la roca se pulverizó hasta obtener un polvo fino y se le dio la forma de una pastilla pequeña obtenida por presión. Tras la abla-

ción con un haz de un láser, se introdujo el vapor resultante en la antorcha de ICP por medio de un flujo de un gas inyector, donde se produjo la ionización. Los iones gaseosos se analizaron después en un espectrómetro de masas cuadrupolar.

Existen en el mercado accesorios que permiten la utilización de la mayoría de las fuentes de iones citadas en la Tabla 11-1 junto con una antorcha de ICP.

11C-2. Espectros de masas atómicas e interferencias

Una de las ventajas de utilizar la detección espectrométrica de masas con plasmas de acoplamiento inductivo en comparación con la detección óptica es que los espectros de masas suelen ser mucho más sencillos y fáciles de interpretar que los correspondientes espectros ópticos. Esta propiedad es especialmente cierta para aquellos elementos, como los de las tierras raras, que tienen miles de líneas de emisión. La Figura 11-12 muestra esta ventaja para una disolución que contiene cerio. La Figura 11-12a corresponde al espectro óptico de emisión de una disolución que contiene 100 ppm de cerio; la gráfica inferior es el espectro de masas de una disolución que tiene una concentración de

⁸ Véase E. A. Denoyer, K. J. Fredeen y J. W. Hager, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 445A.

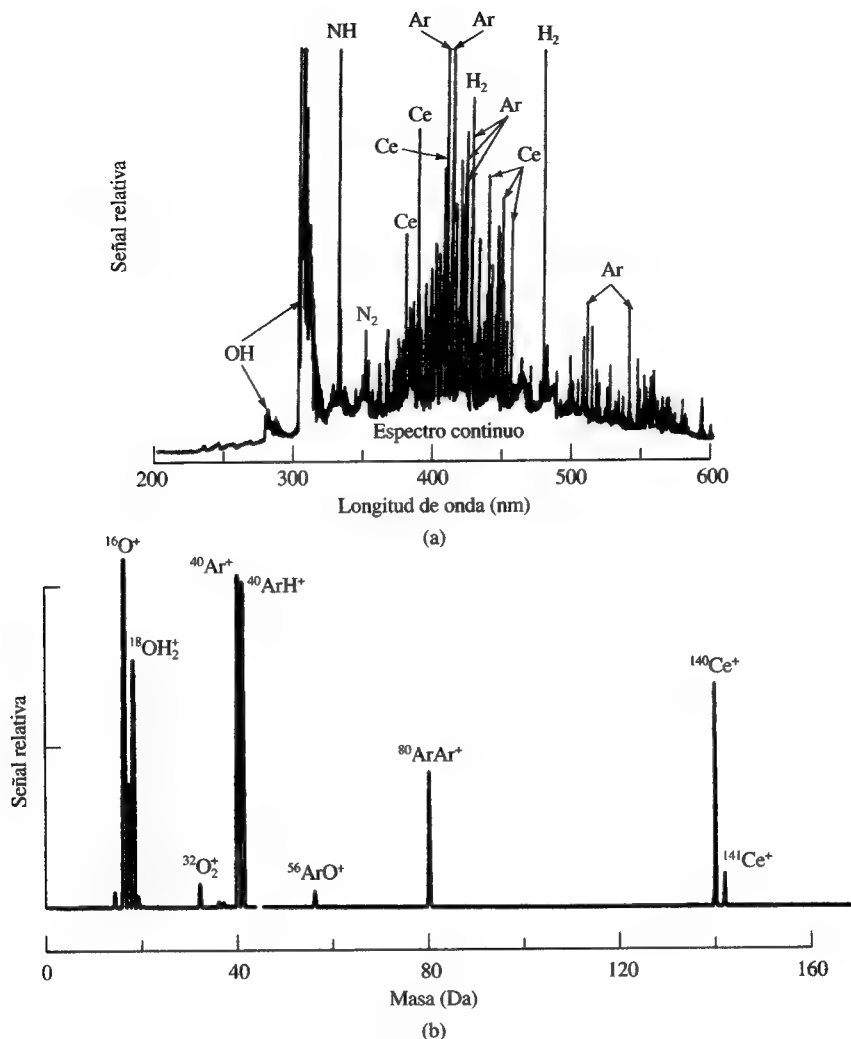


Figura 11-12. Comparación de (a) un espectro óptico de ICP de 100 ppm de cerio y (b) un espectro de masas de ICP de 10 ppm de cerio.

10 ppm de este elemento. El espectro óptico del cerio contiene una docena o más de líneas intensas y cientos de líneas débiles, todas ellas se superponen sobre el complejo espectro del fondo. El fondo óptico está compuesto por bandas moleculares de contaminantes atmosféricos, como NH, OH, N₂ y H₂, y un espectro continuo correspondiente a la recombinación del argón y otros iones con los electrones. Por el contrario, el espectro de masas del cerio, mostrado en la Figura 11-12b, es notablemente más sencillo, consta de dos picos de isótopos para el ¹⁴⁰Ce⁺ y para el ¹⁴²Ce⁺ y un pequeño pico para el ¹⁴⁰Ce²⁺, que se localiza a una $m/z = 70$. Obsérvese que el fondo de este espectro consta tan sólo de pocas especies iónicas moleculares, y

todas ellas aparecen a valores de m/z iguales o inferiores a 40.

Espectros como el de la Figura 11-12b llevaron a pensar a los que primero trabajaron en el campo del ICPMS que era un «método libre de interferencias». Desafortunadamente, esta expectativa no se concretó en estudios posteriores, y algunas veces se encuentran serios problemas de interferencias en espectrometría de masas atómica como sucede en la espectroscopia óptica atómica. Las interferencias en espectroscopia de masas atómica son de dos grandes tipos: interferencias espectroscópicas e interferencias no espectroscópicas. Estas últimas son semejantes a los efectos de matriz que se producen en los métodos ópticos de absorción y de emisión y

generalmente pueden ser solventadas por alguno de los métodos descritos en los dos capítulos anteriores.

Interferencias espectroscópicas

Las interferencias espectroscópicas suceden cuando una especie iónica en el plasma tiene los mismos valores de m/z que un ion del analito. Dichas interferencias pueden ser de cuatro tipos: (1) iones isobáricos, (2) iones poliatómicos o aductos, (3) iones con doble carga y (4) iones de óxidos refractarios⁹.

Interferencias isobáricas. Las *especies isobáricas* son dos elementos con isótopos que tienen sustancialmente la misma masa. En la espectrometría de masas atómica con un espectrómetro de masas cuadrupolar, las especies isobáricas son isótopos que difieren en su masa en menos de una unidad. Con instrumentos de elevada resolución, pueden tolerarse diferencias más pequeñas.

La mayoría de los elementos del Sistema Periódico tienen uno, dos o incluso tres isótopos que están libres del solapamiento isobárico. Una excepción es el indio, que tiene dos isótopos estables, $^{113}\text{In}^+$ y $^{115}\text{In}^+$. El primero se superpone con el $^{113}\text{Cd}^+$ y el segundo con el $^{115}\text{Sn}^+$. Más frecuente es que la interferencia isobárica suceda con el isótopo más abundante y, por tanto, con el más sensible. Por ejemplo, el pico muy intenso del $^{40}\text{Ar}^+$ (véase Figura 11-12b) se solapa con el pico del isótopo más abundante del calcio, $^{40}\text{Ca}^+$ (97 por 100), haciendo necesario utilizar el segundo isótopo más abundante, $^{44}\text{Ca}^+$ (2,1 por 100). Otro ejemplo, el isótopo más abundante del níquel, $^{58}\text{Ni}^+$, presenta un solapamiento isobárico con el $^{58}\text{Fe}^+$. Esta interferencia puede corregirse midiendo el pico del $^{56}\text{Fe}^+$. A partir de la relación de la abundancia natural del isótopo $^{56}\text{Fe}^+$ frente al isótopo $^{58}\text{Fe}^+$, se puede obtener la contribución del Fe al pico a una $m/z = 58$ y hacer la corrección. Se pueden llevar a cabo las correcciones de este problema mediante un software adecuado, debido a que los solapamientos isobáricos se predicen exactamente a partir de

las tablas de abundancia. Algunos instrumentos actuales son capaces de realizar dichas correcciones automáticamente.

Interferencias de iones poliatómicos. Una interferencia que suele ser más seria que la causada por los elementos isobáricos es la que surge a partir de especies poliatómicas formadas por interacciones entre las especies del plasma y las especies de la matriz o de la atmósfera. Como consecuencia, pueden formarse diversos iones moleculares y posiblemente interferir. Este tipo de interferencia se encuentra frecuentemente para valores de m/z por debajo de 82 aproximadamente. La presencia de varias de estas especies se muestra en la Figura 11-12b. Entre los posibles interferentes están $^{40}\text{Ar}^{2+}$, $^{40}\text{ArH}^+$, $^{16}\text{O}_2^+$, $\text{H}_2^{16}\text{O}^+$, $^{16}\text{OH}^+$, $^{14}\text{N}^+$ y otros más. Algunos de éstos pueden causar serios problemas. Ejemplos de interferencias poliatómicas importantes son: $^{14}\text{N}_2^+$ con $^{28}\text{Si}^+$, NOH^+ con $^{31}\text{P}^+$, $^{16}\text{O}_2^+$ con $^{32}\text{S}^+$, $^{40}\text{ArO}^+$ con $^{56}\text{Fe}^+$ y $^{40}\text{Ar}_2^+$ con $^{80}\text{Se}^+$. Algunas de estas interferencias pueden corregirse con un blanco. En otras, se puede utilizar un isótopo diferente del analito.

Interferencia de especies óxido e hidróxido. El tipo de interferencia más importante en ICPMS corresponde a los óxidos e hidróxidos del propio analito, de los componentes de la matriz, del disolvente y de los gases del plasma. Algunos de estos óxidos aparecen en la Figura 11-12b. Las interferencias más importantes de este tipo surgen de óxidos e hidróxidos de los analitos y de los componentes de la matriz. Casi todas estas especies, en cierta manera, forman iones MO^+ y MOH^+ , donde M representa el analito o el elemento de la matriz. Existe la posibilidad de que los picos de estas especies se superpongan con el pico de uno de los iones del analito. Por ejemplo, los iones de óxido con una sola carga de los cinco isótopos del titanio que aparecen de forma natural tienen masas de 62, 63, 64, 65 y 66. Los picos de estos iones presentan interferencias potenciales con los picos del analito del $^{62}\text{Ni}^+$, $^{63}\text{Cu}^+$, $^{64}\text{Zn}^+$, $^{65}\text{Cu}^+$ y $^{66}\text{Zn}^+$. Otro ejemplo, los problemas posibles creados por el óxido e hidróxido de los isótopos de calcio en la determinación de varias especies metálicas que se muestran en la Tabla 11-2.

La reducción de la formación de óxidos e hidróxidos en plasmas es el centro de muchas de las investigaciones actuales. La formación de los óxidos depende de variables experimentales tales como

⁹ Para un estudio exhaustivo de las interferencias de ICPMS, véase K. E. Jarvis, A. L. Gray y R. S. Houk, *Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, Capítulo 5. New York: Blackie, 1992; G. Horlick e Y. Shao, en *Inductively Coupled Plasma in Analytical Atomic Spectrometry*, 2.^a ed., págs. 571-596, A. Montaser y D. W. Golightly, Eds. New York: VCH Publishers, 1992.

TABLA 11-2. Óxido de calcio e hidróxido y otros interferentes potenciales en la región de masas para la determinación del Ni

<i>m/z</i>	Elemento ^a	Interferencias
56	Fe(91,66)	⁴⁰ ArO, ⁴⁰ CaO
57	Fe(2,19)	⁴⁰ ArOH, ⁴⁰ CaOH
58	Ni(67,77), Fe(0,33)	⁴² CaO, NaCl
59	Co(100)	⁴³ CaO, ⁴² CaOH
60	Ni(26,16)	⁴³ CaOH, ⁴⁴ CaO
61	Ni(1,25)	⁴⁴ CaOH
62	Ni(3,66)	⁴⁶ CaO, Na ₂ O, NaK
63	Cu(69,1)	⁴⁸ CaOH, ⁴⁰ ArNa
64	Ni(1,16), Zn(48,89)	³² SO ₂ , ³² S ₂ , ⁴⁸ CaO
65	Cu(30,9)	³³ S ³² S, ³³ SO ₂ , ⁴⁸ CaOH

^a Abundancia natural en tanto por ciento entre paréntesis. (De M. A. Vaughan y D. M. Templeton, *Appl. Spectrosc.*, **1990**, *44*, 1685. Reproducción autorizada.)

la velocidad del flujo inyector, la potencia de radiofrecuencia, el espaciado del separador del muestreador, el tamaño del orificio de la muestra, la composición de los gases del plasma, la eliminación del oxígeno y la eficacia de la eliminación del disolvente. Se puede actuar sobre todas estas variables para evitar de manera específica los problemas de solapamiento por hidróxidos y óxidos.

Efectos de la matriz

En ICPMS, los efectos de la matriz llegan a ser evidentes a concentraciones concomitantes superiores a 500-1.000 µg/mL. Estos efectos suelen causar una reducción en la señal del analito, aunque en ciertas condiciones experimentales se observa un aumento de dicha señal. El efecto de la matriz es bastante general produciéndose a elevadas concentraciones de casi cualquier elemento concomitante. Por lo general, dichos efectos se pueden minimizar utilizando disoluciones más diluidas, alterando el procedimiento de introducción de la muestra, o separando las especies que lo provocan. Los efectos también pueden ser eliminados en gran medida utilizando un patrón interno apropiado, es decir, introduciendo un elemento patrón interno que tenga aproximadamente la misma masa y potencial de ionización que el analito.

11C-3. Aplicaciones de ICPMS

El ICPMS se puede utilizar para la determinación cualitativa, semicuantitativa y cuantitativa de uno o más elementos en muestras de materia.

Aplicaciones cualitativas y semicuantitativas

Dado que el ICPMS se adapta fácilmente a los análisis multielementales, se adecúa a la rápida caracterización y análisis semicuantitativo de varios tipos de materiales complejos que aparecen en la naturaleza o que hace el hombre. En general, los límites de detección son mejores que los de emisión óptica de ICP y compite con los límites de detección de la espectroscopia de absorción atómica electrotérmica.

Por lo general, los espectros de masas atómicos son muchísimo más sencillos y fáciles de interpretar que los espectros de emisión ópticos. Esta propiedad es particularmente importante para muestras que contienen elementos de las tierras raras y otros metales pesados, como el hierro, que producen espectros complejos de emisión ópticos. La Figura 11-12b ilustra esta ventaja. Esta sencillez espectral se observa también en la Figura 11-13, que muestra el espectro de masas atómico de una mezcla de 14 elementos de las tierras raras que tienen un intervalo de masas de 139 a 175. El espectro de emisión óptico para esta mezcla sería tan complejo que la interpretación sería tediosa, consumiría mucho tiempo y, tal vez, fuera imposible.

El análisis semicuantitativo de uno o más de los componentes en una mezcla como la que muestra la Figura 11-13 es posible midiendo la corriente o la intensidad del pico del ion para una disolución que tiene una concentración conocida del elemento en cuestión. La concentración del analito en la muestra se calcula suponiendo que la corriente del ion es proporcional a la concentración. Las concentraciones calculadas por este rudimentario pero sencillo método llegan a exactitudes de hasta ±100 por 100 relativo.

Límites de detección

Uno de los principales atractivos del ICPMS radica en los límites de detección más bajos de la detección espectrométrica de masas respecto a la detección óptica. Éstos, en muchos casos, son iguales e incluso, a veces, sobrepasan a los que se pueden obtener con los métodos de absorción atómica electrotérmica. El procedimiento de ICPMS ofrece

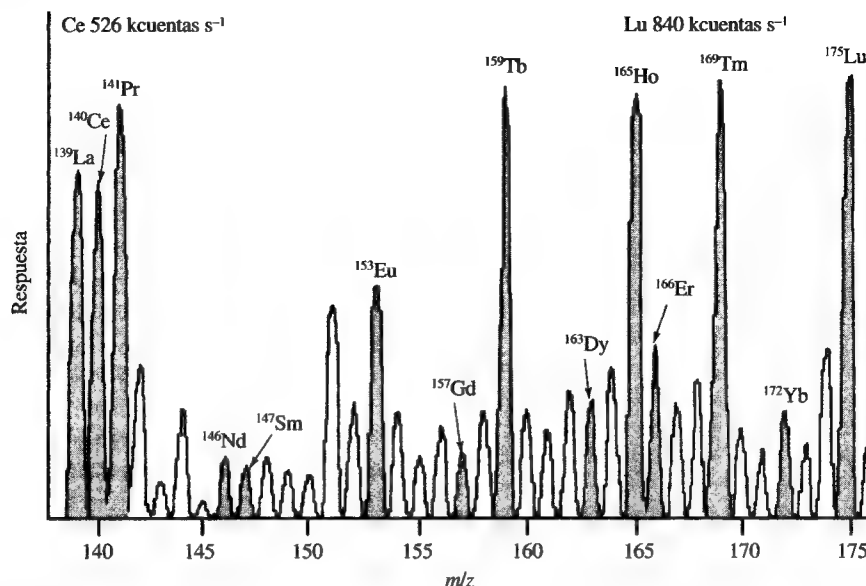


Figura 11-13. Espectro ICPMS de elementos de las tierras raras. Las disoluciones contienen 1 $\mu\text{g/mL}$ de cada elemento. (De K. E. Jarvis, *J. Anal. Atom. Spectrom.*, 1989, 4, 563. Reproducción autorizada).

las grandes ventajas de la rapidez y de la capacidad multielemental. La Figura 11-14 compara los límites de detección para determinados elementos del ICPMS con los de espectroscopia de emisión óptica

en plasma de acoplamiento inductivo (ICPOES) y con los de espectroscopia de absorción atómica electrotérmica (ETAAS). Estos datos son característicos para la mayoría de los otros elementos del

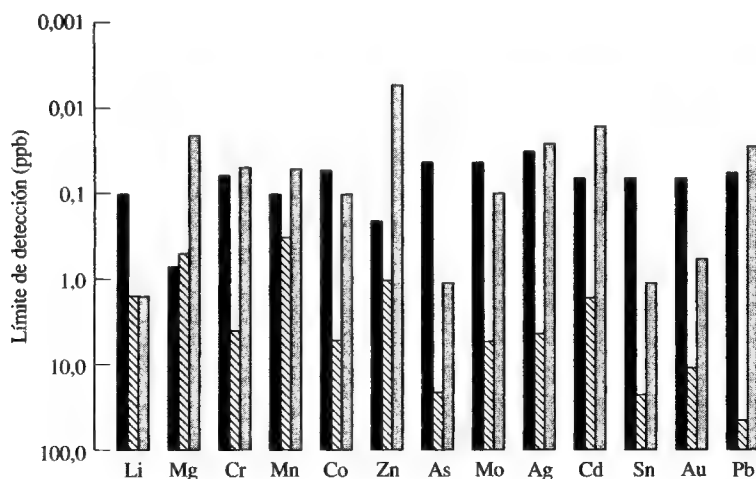


Figura 11-14. Límites de detección de algunos elementos seleccionados por ICPMS (barras negras) comparados con los de ICP OES (barras rayadas) y de ETAAS (barras grises) (espectrometría de emisión óptica en plasma de acoplamiento inductivo y espectrometría de absorción atómica electrotérmica, respectivamente), representados en escala logarítmica para concentraciones de ppb (o $\mu\text{g/L}$). Como los límites de detección de ETAAS se expresan de manera inherente en unidades de masa (pg), se han transformado a una concentración suponiendo un volumen de muestra de 20 μL . (De M. Selby y G. M. Hieftje, *Amer. Lab.*, 1987 (8), 20. Reproducción autorizada).

Sistema Periódico. En general, los límites de detección para detección espectrométrica de masas se encuentran entre 0,02 y 0,7 ppb, con la mayoría de los elementos en el intervalo 0,02-0,1 ppb.

Análisis cuantitativos

El método cuantitativo que más se utiliza de ICPMS emplea un conjunto de patrones de calibración para preparar la curva de calibrado. Un patrón único en disolución acuosa suele ser adecuado si las disoluciones problemas están lo suficientemente diluidas —menos de 2.000 $\mu\text{g/mL}$ de sólidos disueltos totales—. Para concentraciones elevadas de elementos de la matriz, se intenta igualar los elementos presentes en la matriz de las muestras con los de los patrones. Para compensar la deriva del instrumento, las inestabilidades y los efectos de la matriz, se suele introducir un patrón interno tanto en los patrones como en las muestras. El patrón interno es un elemento que está ausente de las muestras y que tiene una masa atómica y un potencial de ionización próximo al de los analitos. Se suelen utilizar dos elementos como patrones internos, el indio y el rodio. Ambos se encuentran en la zona intermedia del intervalo de masa (115, 113 y 103) y normalmente no están presentes de forma natural en las muestras. Generalmente, las gráficas log/log de la corriente iónica, el recuento de iones o la relación de intensidades de la muestra y del patrón interno son lineales en varios órdenes de magnitud de concentración. La Figura 11-15 muestra las curvas de calibrado para la determinación de varios elementos de las tierras raras. Se observa una relación lineal entre el recuento del pico y la concentración en cuatro órdenes de concentración.

La Tabla 11-3 ilustra los resultados característicos obtenidos para el análisis cuantitativo de elementos traza en una muestra de agua natural del National Bureau of Standards (Oficina Nacional de Estándares). Obsérvese que las concentraciones están en partes por billón. Los 13 análisis se completaron en un tiempo de tan sólo 15 min. Los resultados muestran en la mayoría de los elementos una marcada concordancia con los datos de la muestra patrón.

Para los análisis cuantitativos más exactos, se puede utilizar el *método de dilución isotópica*. Esta técnica se basa en la medida de la variación de la relación de las intensidades de la señal de dos isótopos de un elemento que resultan de la adición de una cantidad conocida, o una *adición (spike)*, de

una disolución patrón que está enriquecida con uno de los isótopos. Los principios y relaciones matemáticas que relacionan la concentración del analito con la cantidad de patrón añadido y el cambio en la relación de la señal se describen con detalle en el Apartado 32D, que trata del empleo de esta técnica con isótopos radiactivos. Las ventajas del método de dilución isotópica son una mejora de la exactitud y su inmunidad a una amplia variedad de interferencias químicas y físicas. Su principal limitación es el tiempo que requiere para realizar este tipo de análisis.

Medida de la relación isotópica

La medida de la relación isotópica es de considerable importancia en diversos campos de la ciencia y de la medicina. Por ejemplo, los arqueólogos y los geólogos utilizan dichos datos para establecer la edad de los artefactos y de los distintos tipos de depósitos. Los químicos y los clínicos utilizan los materiales enriquecidos isotópicamente como marcadores en distintos tipos de estudios. La consecuencia de ellos es la medida de las relaciones isotópicas. Históricamente, las medidas de relaciones isotópicas se realizaban mediante la atomización e ionización térmicas, en las que la muestra se descomponía, atomizaba e ionizaba en uno o más filamentos calentados eléctricamente. Los iones así obtenidos se llevaban a un espectrómetro de doble enfoque, donde se medían las relaciones isotópicas. Estas medidas consumían bastante tiempo, pero eran bastante precisas, con una desviación estándar relativa del orden del 0,01 por 100. En la actualidad, se determinan las relaciones isotópicas frecuentemente por medio del ICPMS, en el que las medidas se pueden completar generalmente en cinco o diez minutos. Sin embargo, la precisión en este caso suele ser menor, multiplicada por 10 a 100. En muchas ocasiones, una reproducibilidad de este orden es perfectamente satisfactoria.

11D. ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE FUENTE DE CHISPA¹⁰

La espectrometría de masas atómica de fuente de chispa (SSMS) se introdujo por primera vez en los años treinta como una herramienta general para los

¹⁰ Véase G. Ramendik, J. Verlinden y R. Gijbels, en *Inorganic Mass Spectrometry*, F. Adams, R. Gijbels y R. Van Grieken, Eds., Capítulo 2. New York: Wiley, 1988.

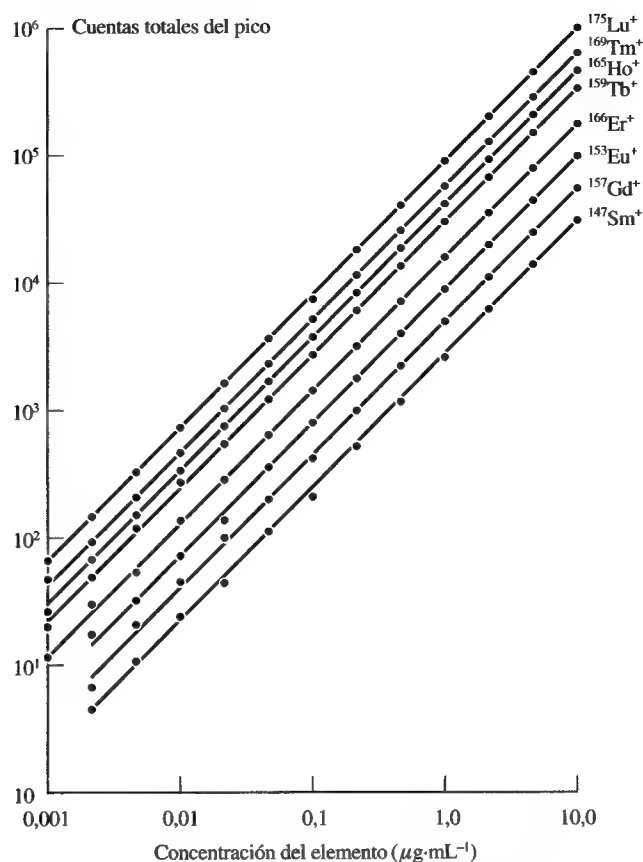


Figura 11-15. Curvas de calibrado de ICPMS para distintos elementos de las tierras raras.

análisis multielementales y de trazas isotópicas. Sin embargo, hasta 1958 no apareció en el mercado el primer espectrómetro de masas de fuente de chispa comercial. Tras un período de rápido desarrollo en los años sesenta, el empleo de esta técnica disminuyó y empezó a ceder el puesto ante la aparición del ICPMS y algún otro tipo de método espectrométrico de masas estudiado en este capítulo. Actualmente, la espectrometría de masas de fuente de chispa todavía tiene aplicación en muestras que no se disuelven ni se analizan fácilmente por ICP.

En la espectrometría de masas de fuente de chispa, los componentes atómicos de la muestra se convierten en iones gaseosos para el análisis de masas mediante un chispa de radiofrecuencia de elevado potencial (≈ 30 kV). La chispa se aloja en una cámara a vacío localizada inmediatamente al lado del analizador de masas. La cámara está equipada con un sistema separado de bombeo de alta velocidad que reduce rápidamente la presión interna a unos 10^{-8} torr una vez efectuados los cambios

en la muestra. Con frecuencia, la muestra actúa como uno o ambos electrodos. Alternativamente, se mezcla con grafito y se carga en un electrodo con forma de copa. Los iones positivos gaseosos formados en el plasma de la chispa se aceleran en el analizador mediante un potencial de corriente continua.

Una fuente de chispa produce iones con una amplia gama de energías cinéticas. Por ello, para el análisis de masas de los iones se requieren espectrómetros de masas de doble enfoque caros. Se suele utilizar el tipo Mattauch-Herzog mostrado en la Figura 11-9. Se han diseñado instrumentos de fuente de chispa modernos para utilizar tanto sistemas de detección fotográficos como eléctricos. Este último corresponde a los multiplicadores de electrones, que se describieron en el Apartado 11B-1. Cuando los multiplicadores de electrones se utilizan con espectrómetros de masas de doble enfoque, se produce el barrido del espectro variando el campo magnético del analizador magnético. Normalmente, la resolución de estos espectróme-

TABLA 11-3. Determinación cuantitativa de elementos traza en una muestra patrón de agua

Elementos	Ion	ICP-MS ^a		
		NBS ^a	Media	RSD (%) ^b
Berilio	⁹ Be ⁺	19	21	20
Vanadio	⁵¹ V ⁺	54	52	6
Cromo	⁵² Cr ⁺	17	18	12
Manganeso	⁵⁵ Mn ⁺	32	34	5
Cobalto	⁵⁹ Co ⁺	19	21	7
Cinc	⁶⁶ Zn ⁺	69	57	11
Arsénico	⁷⁵ As ⁺	77	76	5
Estroncio	⁸⁸ Sr ⁺	243	297	7
Molibdeno	⁹⁸ Mo ⁺	97	134	9
Plata	¹⁰⁷ Ag ⁺	2,8	3,5	16
Cadmio	¹¹⁴ Cd ⁺	10	13	22
Bario	¹³⁸ Ba ⁺	47	74	17
Plomo	²⁰⁸ Pb ⁺	27	31	8

^a Concentración en partes por billón.

^b En 10 determinaciones.

tros utilizados con fuentes de chispa es de órdenes de magnitud superiores a los de los instrumentos cuadrupolares utilizados con ICP. Por ello, el número de interferencias isobáricas es significativamente menor. Por ejemplo, en la determinación de hierro en una matriz silícea, como en muestras de rocas o vidrios, hay una interferencia potencial del silicio. En este caso, la determinación corresponde al pico del ⁵⁶Fe⁺ ($m/z = 55,93494$), sin embargo también se observa un pico detectable de ²⁸Si₂⁺ ($m/z = 55,95386$). El poder de resolución de la mayoría de los espectrómetros de doble enfoque es suficiente para separar estos picos, mientras que con un instrumento cuadrupolar se produce una interferencia isobárica debida al dímero de silicio.

11D-1. Espectros

Como en los espectros de masas de ICP, los espectros de masas de fuente de chispa son mucho más sencillos que sus homólogos de emisión atómica y constan de un pico principal para cada isótopo de un elemento, y de unas pocas líneas débiles correspondientes a iones con cargas múltiples y especies de óxidos e hidróxidos ionizados. La presencia de

estos iones adicionales da lugar a posibles interferencias como las que aparecen en ICPMS.

11D-2. Aplicaciones cualitativas

La espectrometría de masas de fuente de chispa es una herramienta importante para los análisis cualitativos y semicuantitativos. Todos los elementos del Sistema Periódico desde el ⁷Li hasta el ²³⁸U se pueden identificar mediante una única excitación. Realizando múltiples exposiciones, es posible determinar el orden de magnitud de las concentraciones de los componentes mayoritarios de una muestra, así como los componentes cuya concentración se encuentre a nivel de partes por billón. Sin embargo, la interpretación de los espectros requiere habilidad y experiencia, debido a la presencia de especies con múltiples cargas, especies poliméricas e iones moleculares.

11D-3. Aplicaciones cuantitativas

Una chispa de radiofrecuencia no es una fuente muy reproducible durante períodos cortos. Por ello, es necesario integrar las señales de salida de una chispa durante períodos que oscilan entre varios segundos y cientos de segundos, si se quieren obtener datos cuantitativos satisfactorios. La placa fotográfica es el dispositivo de integración; en caso de realizar una detección eléctrica, se debe hacer una planificación para integrar la corriente. Además de la integración, es habitual mejorar la reproducibilidad utilizando la relación entre la señal del analito y la del patrón interno como variable analítica. Se elige generalmente como patrón uno de los elementos mayoritarios de la matriz de la muestra; alternatively, se añade una cantidad fija de un compuesto puro a cada muestra y a cada patrón utilizado en la calibración. En este último caso, la sustancia que actúa de patrón interno no debe aparecer en las muestras. Con estas precauciones, la desviación estándar relativa oscila entre valores bajos de tanto por ciento hasta un 20 por 100 como máximo.

Las ventajas de la espectrometría de masas de fuente de chispa son su elevada sensibilidad, su aplicabilidad a una amplia variedad de matrices de muestra, el gran intervalo dinámico lineal de la señal de salida (con frecuencia varios órdenes de magnitud) y la gran variedad de elementos que se pueden detectar y medir cuantitativamente.

11E. ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE DESCARGA LUMINISCENTE¹¹

Como se indicó en el Apartado 8C-2, una fuente de descarga luminiscente se utiliza como dispositivo de atomización para varios tipos de espectroscopia atómica. Además de atomizar las muestras, también produce una nube de iones positivos del analito a partir de muestras sólidas. Este dispositivo consiste en un sencillo sistema cerrado de dos electrodos que contiene argón a una presión de 0,1 a 10 torr. Se aplica a través de los electrodos un potencial de 5 a 15 kV mediante una fuente de alimentación pulsante de corriente continua, que provoca la formación de iones positivos de argón, los cuales se aceleran hacia el cátodo. Éste se fabrica con la muestra, o bien, la muestra se deposita sobre un cátodo metálico inerte. Como sucede en la lámpara de cátodo hueco (Apartado 9B-1), los átomos de la muestra son expulsados del cátodo a la zona situada entre los electrodos, donde se convierten en iones positivos al chocar con electrones o iones positivos de argón. Los iones del analito son conducidos al espectrómetro de masas mediante un vacío diferencial. Después los iones se filtran en un analizador cuadrupolar o dispersados con un sector magnético para su detección y determinación.

Como se mencionó anteriormente, las fuentes de descarga luminiscente se utilizan frecuentemen-

te con antorchas de ICP. La descarga luminiscente actúa como atomizador y la antorcha de ICP como ionizador.

La fuente de descarga luminiscente parece ser más estable que la fuente de chispa y es más económica tanto en la adquisición como en el mantenimiento. Es particularmente útil para el análisis directo de muestras sólidas. En la actualidad existen en el mercado espectrómetros de masas comerciales cuadrupolares y de doble enfoque con fuentes de descarga luminiscente.

11F. ANÁLISIS ELEMENTAL DE SUPERFICIES POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS

En ciertas áreas de la ciencia y de la ingeniería, la composición elemental de una capa superficial de un sólido, que es de unos pocos angstrom a unas pocas decenas de angstrom de espesor, es de mucho mayor interés que la composición elemental global. Campos donde la composición superficial es de primordial importancia son la catálisis heterogénea, estudios de corrosión y adherencia, propiedades de fragilidad y estudios de comportamiento y funcionalidad de las membranas biológicas.

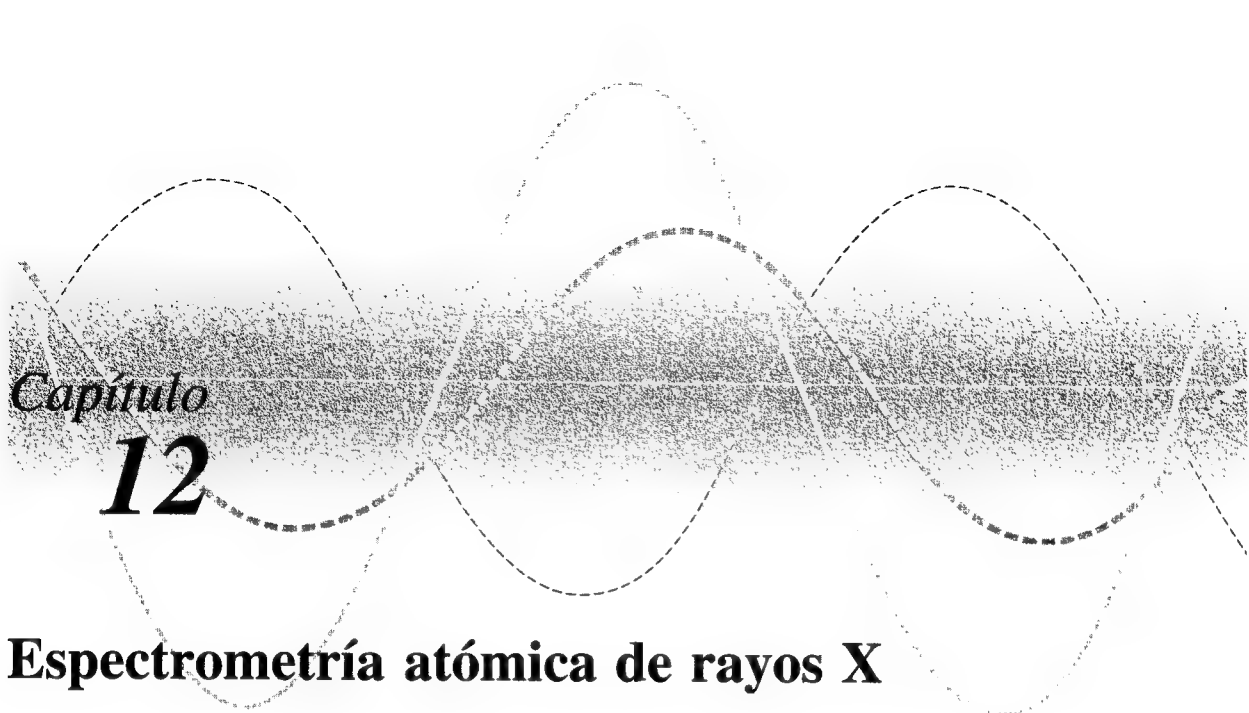
Se suelen utilizar dos métodos espectrométricos de masas atómicos para determinar la composición elemental de superficies sólidas: *espectrometría de masas de ion secundario* y *espectrometría de masas con microsonda de láser*. Estas técnicas se estudian con detalle en los Apartados 21B-5 y 21B-6.

¹¹ Véase W. W. Harrison, C. M. Barshick, J. A. Klinger, P. H. Ratliff e Y. Mei, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 943A; W. W. Harrison, en *Inorganic Mass Spectrometry*, Capítulo 3, F. Adams, R. Gijbels y R. Van Grieken, Eds. New York: Wiley, 1988.

11G. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 11-1. ¿Qué tipos de espectrómetros de masas se utilizan en ICPMS? ¿Cómo se diferencian unos de otros?
- 11-2. ¿Qué función tiene la antorcha de ICP en ICPMS?
- 11-3. ¿Qué representan los ejes de ordenadas y de abscisas en un espectro típico de masas atómico?
- 11-4. ¿Por qué se ha convertido el ICPMS en un método analítico importante y muy utilizado?
- 11-5. Describir la interferencia entre la antorcha de ICP y el espectrómetro de masas en un instrumento de ICPMS.
- 11-6. ¿Cómo se utilizan los láseres como un medio de muestreo de sólidos en ICPMS?

- 11-7.** ¿Qué tipo de interferencias se producen en espectrometría de masas atómica?
- 11-8.** ¿Por qué se utiliza frecuentemente un patrón interno en los análisis cuantitativos por ICPMS?
- 11-9.** Describir cómo se emplea la técnica de dilución isotópica en la espectrometría de masas atómica.
- 11-10.** Describir cómo se lleva a cabo la espectrometría de masas de descarga luminiscente. ¿Qué ventajas presenta esta técnica?
- 11-11.** ¿Qué es la espectrometría de masas de ion secundario? ¿Qué tipo de información proporciona este método?



Capítulo 12

Espectrometría atómica de rayos X

La espectroscopia de rayos X, al igual que la espectroscopia óptica, se basa en la medida de la emisión, absorción, dispersión, fluorescencia y difracción de la radiación electromagnética. Los métodos de fluorescencia de rayos X y absorción de rayos X son muy utilizados para la determinación cualitativa y cuantitativa de todos los elementos de la tabla periódica con números atómicos superiores al del sodio¹. Con un equipo especial también se pueden determinar los elementos con números atómicos comprendidos entre 5 y 10.

12A. PRINCIPIOS FUNDAMENTALES

Los rayos X son una radiación electromagnética de longitud de onda corta producida por el frenado de

electrones de elevada energía o por transiciones electrónicas de electrones que se encuentran en los orbitales internos de los átomos. El intervalo de longitudes de onda de los rayos X comprende desde aproximadamente 10^{-5} Å hasta 100 Å; sin embargo, la espectroscopia de rayos X convencional se limita, en su mayor parte, a la región de aproximadamente 0,1 Å a 25 Å ($1 \text{ Å} = 0,1 \text{ nm} = 10^{-10} \text{ m}$)

12A-1. Emisión de rayos X

Cuando se trata de fines analíticos, los rayos X se obtienen de cuatro maneras: (1) por bombardeo de un blanco metálico con un haz de electrones de elevada energía, (2) por exposición de una sustancia a un haz primario de rayos X con el objetivo de generar un haz secundario de fluorescencia de rayos X, (3) utilizando una fuente radiactiva cuyo proceso de desintegración da lugar a una emisión de rayos X², y (4) a partir de una fuente de radiación sincrotrón. Sólo tres laboratorios en Estados Unidos tienen la posibilidad de producir una radiación

¹ Para una discusión más extensa sobre la teoría y las aplicaciones analíticas de los rayos X, véase R. Jenkins, *X-Ray Fluorescence Spectrometry*. New York: Wiley, 1988; B. Dziunikowski, *Energy-Dispersive X-Ray Fluorescence Analysis*. New York: Elsevier, 1989; H. A. Liebhafsky, H. G. Pfeiffer y E. A. Meyers, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.^a ed., P. J. Elving, E. J. Meehan e I. M. Kolthoff, Eds., Parte I, Vol. 8, Capítulo 13. New York: Wiley, 1986; R. Jenkins, R. W. Gould y D. Gedcke, *Quantitative X-Ray Spectrometry*, 2.^a ed. New York: Marcel Dekker, 1995.

² La radiación electromagnética producida por fuentes radiactivas, a menudo se conoce como *radiación gamma*. La radiación gamma no se puede distinguir de la radiación de rayos X.

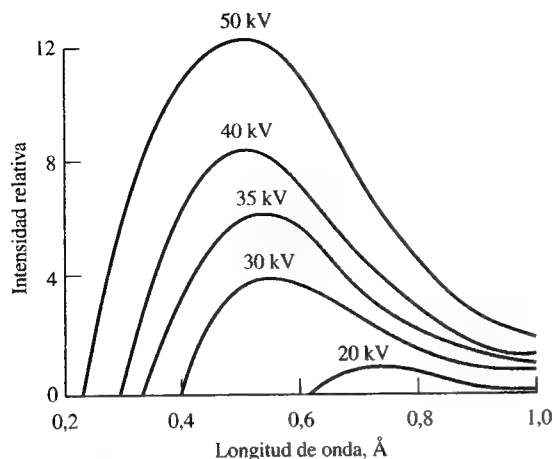


Figura 12-1. Distribución de la radiación continua de un tubo de rayos X con un blanco de wolframio. Los números situados en la parte superior de las curvas indican los potenciales de aceleración.

sincrotrón de rayos X³. Por esta razón, sólo se considerarán las tres primeras fuentes.

Las fuentes de rayos X, al igual que los emisores de radiación ultravioleta y visible, pueden producir espectros continuos y de líneas; ambos tienen interés en análisis. La radiación continua se denomina también *radiación blanca* o *Bremsstrahlung*. *Bremsstrahlung* significa radiación que surge del frenado de las partículas; esta radiación es, generalmente, de naturaleza continua.

Espectros continuos de fuentes de haces de electrones

En un tubo de rayos X, los electrones producidos en un cátodo caliente son acelerados hacia un ánodo metálico (el *blanco*) mediante un potencial tan elevado como 100 kV; en la colisión, parte de la energía del haz de electrones se convierte en rayos X. En ciertas condiciones, únicamente se obtiene un espectro continuo como el que se muestra en la Figura 12-1; en otras, un espectro de líneas se superpone al continuo (véase Fig. 12-2).

³ Los tres laboratorios son el Brookhaven National Laboratory, el Cornell High-Energy Synchrotron Radiation Laboratory y el Stanford Synchrotron Radiation Laboratory. La naturaleza colimada y de alta energía de los haces procedentes de este tipo de fuentes permite llevar a cabo aplicaciones que no se pueden efectuar con las otras tres fuentes de rayos X. Para una revisión de las aplicaciones de los rayos X inducidos por el sincrotrón, véase K. W. Jones y B. M. Gordon, *Anal. Chem.*, **1989**, *61*, 341A.

El espectro continuo que se muestra en las dos figuras se caracteriza por una longitud de onda mínima o límite bien definida (λ_0), que depende del potencial de aceleración V pero es independiente del material que constituye el blanco. Así, la λ_0 del espectro producido con un blanco de molibdeno a 35 kV (Fig. 12-2) es idéntica a la λ_0 con wolframio como blanco, al mismo potencial (Fig. 12-1).

La radiación continua de una fuente de haz de electrones es el resultado de las colisiones entre los electrones del haz y los átomos del material sobre el que incide dicho haz. En cada colisión, el electrón frena y se produce un fotón de la energía de los rayos X. La energía del fotón es igual a la diferencia entre la energía cinética del electrón antes y después de la colisión. Generalmente, los electrones de un haz frenan como consecuencia de las colisiones; la pérdida de energía cinética resultante difiere de una colisión a otra. Por ello, las energías de los fotones de rayos X emitidos varían de forma continua dentro de un intervalo considerable. La energía del fotón máxima generada corresponde al frenado instantáneo del electrón hasta una energía cinética nula en una única colisión. Para tal suceso, se puede escribir

$$h\nu_0 = \frac{hc}{\lambda_0} = Ve \quad (12-1)$$

donde Ve , el producto del potencial de aceleración y la carga del electrón, es la energía cinética de todos los electrones del haz; h es la constante de

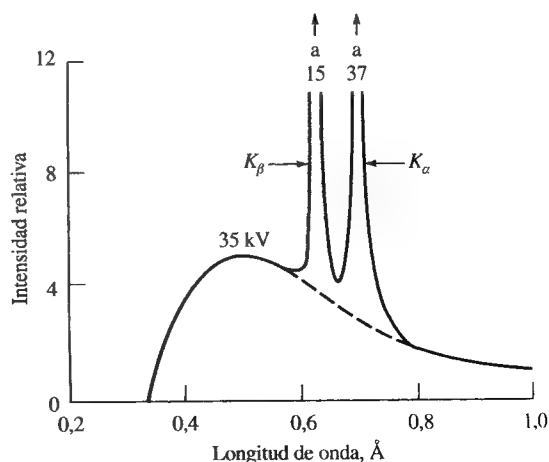


Figura 12-2. Espectro de líneas de rayos X obtenido con un blanco de molibdeno.

Planck; c es la velocidad de la luz. El parámetro ν_0 es la frecuencia máxima de la radiación que se puede producir a un potencial V y λ_0 es la longitud de onda mínima o límite de la radiación. Esta relación se conoce como la *ley de Duane-Hunt*. Al sustituir las constantes por sus valores numéricos y al reordenar, la Ecuación 12-1 se transforma en

$$\lambda_0 = 12,398/V \quad (12-2)$$

donde λ_0 y V tienen unidades de angströms y voltios, respectivamente. Es interesante señalar que la Ecuación 12-1 proporciona un medio directo para la determinación enormemente exacta de la constante de Planck.

Espectros de líneas de fuentes de haces de electrones

Tal como se muestra en la Figura 12-2, el bombardeo de un blanco de molibdeno produce líneas de emisión intensas alrededor de 0,63 y 0,71 Å; en el intervalo de longitudes de onda más largo, comprendido entre 4 y 6 Å, se producen una serie de líneas adicionales sencillas.

El comportamiento de emisión del molibdeno es característico de todos los elementos que tienen números atómicos superiores a 23; es decir, los espectros de líneas de rayos X son extraordinariamente sencillos si se comparan con la emisión ultravioleta y constan de dos series de líneas. El grupo de longitud de onda más corta se llama serie K y el otro serie L⁴. Los elementos con números atómicos inferiores a 23 producen sólo una serie K. La Tabla 12-1 muestra las longitudes de onda de los espectros de emisión de algunos elementos.

Una segunda característica de los espectros de rayos X es que el potencial de aceleración mínimo necesario para la excitación de las líneas de cada elemento aumenta con el número atómico. De este modo, el espectro de líneas para el molibdeno (número atómico = 42) desaparece si el potencial de excitación es inferior a 20 kV. Tal como se ve en la Figura 12-1, el bombardeo de wolframio (número

TABLA 12-1. Longitudes de onda, expresadas en Angstroms, de las líneas de emisión más intensas de algunos elementos característicos

Elemento	Núm. atómico	Serie K		Serie L	
		α_1	β_1	α_1	β_1
Na	11	11,909	11,617	—	—
K	19	3,742	3,454	—	—
Cr	24	2,290	2,085	21,714	21,323
Rb	37	0,926	0,829	7,318	7,075
Cs	55	0,401	0,355	2,892	2,683
W	74	0,209	0,184	1,476	1,282
U	92	0,126	0,111	0,911	0,720

atómico = 74) no produce líneas en la región de 0,1 a 1,0 Å, incluso a 50 kV. Sin embargo, si el potencial alcanza los 70 kV, las líneas K características aparecen a 0,18 y 0,21 Å.

La Figura 12-3 ilustra la relación lineal entre la raíz cuadrada de la frecuencia para una línea dada (K o L) y el número atómico del elemento responsable de la radiación. Esta relación fue descubierta por H. G. J. Moseley en 1914.

Los espectros de líneas de rayos X son el resultado de transiciones electrónicas en las que están implicados los orbitales atómicos más internos.

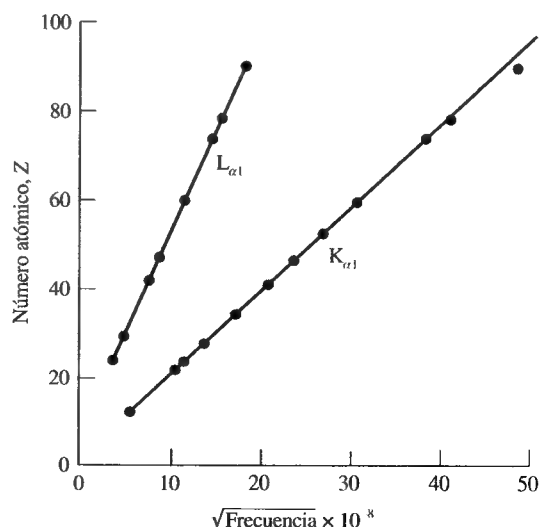


Figura 12-3. Relación entre la frecuencia de emisión de los rayos X y el número atómico para las líneas $K_{\alpha 1}$ y $L_{\alpha 1}$.

⁴ Para los elementos más pesados, se encuentran series de líneas adicionales (M, N y sucesivas) a longitudes de onda más largas. Sin embargo, sus intensidades son bajas y se usan poco. Las designaciones K y L provienen de las palabras alemanas *kurtz* y *lang* para longitudes de onda cortas y largas. Se añadieron designaciones alfabéticas adicionales para las líneas que aparecen a longitudes de onda más largas.

Las series K de longitud de onda corta se producen cuando los electrones de alta energía que proceden del cátodo arrancan electrones de los orbitales más cercanos al núcleo de los átomos del blanco. La colisión da lugar a la formación de *iones* excitados, que después emiten cuantos de radiación X cuando los electrones de los orbitales externos sufren transiciones hacia el orbital que ha quedado vacío. Como se muestra en la Figura 12-4, las líneas de la serie K son el resultado de las transiciones electrónicas entre los niveles de más alta energía y la capa K. La serie L de líneas se produce cuando se pierde un electrón del segundo nivel cuántico principal, como consecuencia de su expulsión por efecto de un electrón del cátodo o de la transición de un electrón L a un nivel K que produce un cuanto de radiación K. Es importante resaltar que la escala de

energías de la Figura 12-4 es logarítmica. Así, la diferencia de energía entre los niveles L y K es significativamente mayor que entre los niveles M y L. Por tanto, las líneas K aparecen a longitudes de onda más cortas. Es también importante señalar que las diferencias de energía entre las transiciones designadas como α_1 y α_2 al igual que entre las β_1 y β_2 son tan pequeñas que sólo se observa una única línea en todos los espectrómetros excepto en los de mayor resolución (véase Fig. 12-2).

El diagrama de niveles de energía de la Figura 12-4 se puede aplicar a cualquier elemento que tenga electrones suficientes para permitir el número de transiciones que se muestran. Las diferencias de energía entre los niveles aumentan regularmente con el número atómico debido al aumento de carga del núcleo; por esta razón, la radiación de las series

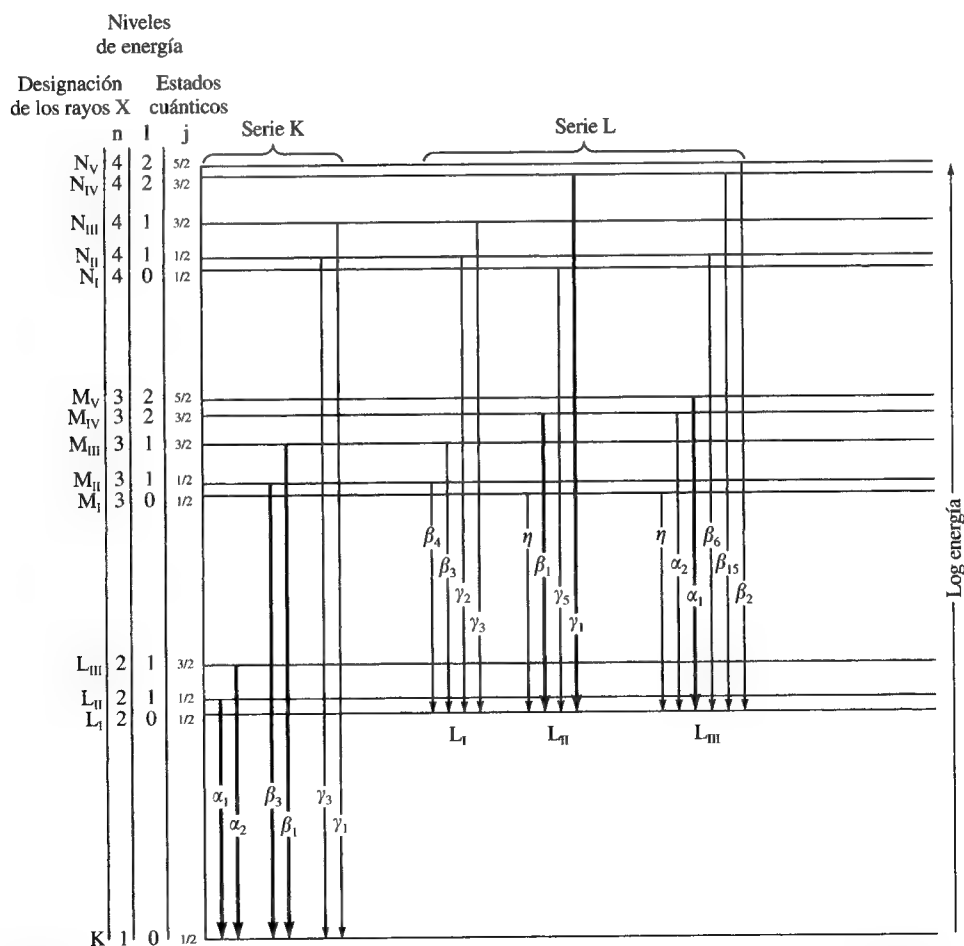


Figura 12-4. Diagrama de niveles de energía parcial que muestra las transiciones que habitualmente producen radiación X. Las líneas más intensas se indican mediante flechas más anchas.

K tiene lugar a longitudes de onda más corta para los elementos más pesados (véase Tabla 12-1). El efecto de la carga del núcleo se refleja también en el aumento del potencial mínimo requerido para producir la excitación de estos elementos y lograr así sus espectros.

Es importante señalar que para todos los elementos excepto para los más ligeros, las longitudes de onda de las líneas de rayos X características son independientes del estado físico y químico del elemento, ya que las transiciones responsables de estas líneas implica electrones que no intervienen en el enlace. Así, la posición de las líneas K_{α} del molibdeno es la misma independientemente de si el blanco es el metal puro, su sulfuro o su óxido.

Espectros de líneas de fuentes fluorescentes

Otro medio útil de producir un espectro de líneas es irradiando el elemento o uno de sus compuestos con radiación continua procedente de un tubo de rayos X. Este proceso se considerará en un apartado posterior.

Espectros de fuentes radiactivas

A veces la radiación de rayos X se produce como consecuencia de un proceso de desintegración radiactiva. Los *rayos gamma*, que son indistinguibles de los rayos X, se producen como consecuencia de

reacciones intranucleares. Muchos procesos de emisión α y β (véase Apartado 32A-2) dejan un núcleo en un estado excitado; el núcleo libera entonces uno o más cuantos de rayos gamma y vuelve al estado fundamental. La *captura de electrón* o *captura K* también produce radiación X. Este proceso conlleva la captura de un electrón K (con menos frecuencia uno L o uno M) por el núcleo y la formación de un elemento de número atómico inmediatamente inferior. Como resultado de la captura K, tienen lugar transiciones electrónicas hacia el orbital vacío y se observan los espectros de líneas de rayos X del nuevo elemento formado. La vida media de los procesos de captura K oscila entre pocos minutos y varios cientos de años.

Los isótopos radiactivos producidos artificialmente proporcionan una fuente muy sencilla de radiación monoenergética para ciertas aplicaciones analíticas. El mejor ejemplo conocido es el del hierro-55, el cual experimenta una reacción de captura K con una vida media de 2,6 años:



La línea K_{α} del manganeso resultante, a aproximadamente 2,1 Å, ha demostrado ser una fuente útil para métodos de fluorescencia y de absorción. En la Tabla 12-2 se enumeran algunas fuentes de radioisótopos comunes en espectroscopia de rayos X.

TABLA 12-2. Fuentes de radioisótopos habituales en espectroscopia de rayos X

Fuente	Proceso de desintegración	Vida media	Tipo de radiación	Energía, keV
$^3\text{H-Ti}^a$	β^-	12,3 años	Continua Rayos X línea K del Ti	3-10 4-5
$^{55}_{26}\text{Fe}$	EC ^b	2,7 años	Rayos X línea K del Mn	5,9
$^{57}_{27}\text{Co}$	EC	270 días	Rayos X línea K del Fe Rayos γ	6,4 14, 122, 136
$^{109}_{48}\text{Cd}$	EC	1,3 años	Rayos X línea K del Ag Rayos γ	22 88
$^{125}_{53}\text{I}$	EC	60 días	Rayos X línea K del Te Rayos γ	27 35
$^{147}_{61}\text{Pm-Al}$	β^-	2,6 años	Continua	12-45
$^{210}_{82}\text{Pb}$	β^-	22 años	Rayos X línea L del Bi Rayos γ	11 47

^a Tritio adsorbido sobre metal de titanio no radiactivo.

^b Captura de electrones.

12A-2. Espectros de absorción

Cuando un haz de rayos X se hace pasar a través de una fina película de materia, su intensidad o potencia disminuye, generalmente, como consecuencia de la absorción y dispersión. El efecto de la dispersión para todos los elementos excepto por los más ligeros, es normalmente pequeño y se puede despreciar en aquellas regiones de longitud de onda donde tiene lugar una absorción apreciable. Como se muestra en la Figura 12-5, el espectro de absorción de un elemento, al igual que su espectro de emisión, es sencillo y consta de pocos picos de absorción bien definidos. En este caso, de nuevo, las longitudes de onda de los picos son características del elemento y son, en gran parte, independientes de su estado químico.

Una peculiaridad de los espectros de absorción de rayos X es la aparición de unas discontinuidades agudas, llamadas discontinuidades o límites o bordes de absorción, a longitudes de onda inmediatamente superiores a las del máximo de absorción.

El proceso de absorción

La absorción de un cuanto de rayos X produce la expulsión de uno de los electrones más internos de un átomo y la consecuente producción de un ion excitado. En este proceso, la energía total de la ra-

diación, $h\nu$, se divide entre la energía cinética del electrón (el *fotoelectrón*) y la energía potencial del ion excitado. La mayor probabilidad de absorción se produce cuando la energía del cuanto es exactamente igual a la energía necesaria para llevar un electrón justo a la periferia del átomo (esto es, cuando la energía cinética del electrón expulsado se acerca a cero).

El espectro de absorción para el plomo, que se muestra en la Figura 12-5, presenta cuatro picos, apareciendo el primero a 0,14 Å. La energía del cuanto correspondiente a esta longitud de onda es exactamente igual a la energía requerida para expulsar el electrón K de mayor energía del elemento; a longitudes de onda ligeramente superiores, la energía de la radiación es insuficiente para producir la expulsión de un electrón K y tiene lugar un descenso brusco de la absorción. A longitudes de onda más cortas que 0,14 Å, la probabilidad de interacción entre el electrón y la radiación disminuye gradualmente; esto se traduce en una disminución suave de la absorción. En esta región, la energía cinética del fotoelectrón expulsado aumenta continuamente al disminuir la longitud de onda.

Los picos adicionales, que aparecen a longitudes de onda más largas, corresponden a la expulsión de un electrón del plomo de los niveles de energía L. Existen tres grupos de niveles L cuyas energías difieren ligeramente (véase Fig. 12-4); por ello se observan tres picos. Otro grupo de picos,

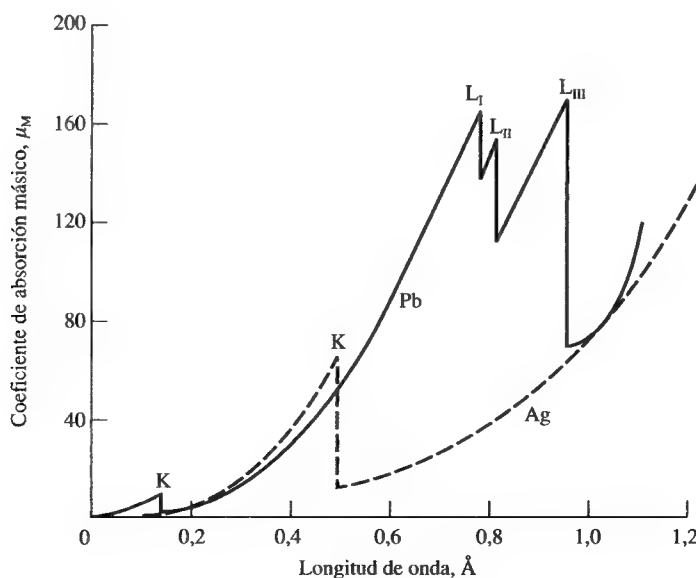


Figura 12-5. Espectros de absorción de rayos X para el plomo y la plata.

que surgen de la expulsión de electrones M, se localizará a longitudes de onda aun más largas.

La Figura 12-5 también muestra la discontinuidad de absorción K para la plata, que tiene lugar a 0,485 Å. Que la longitud de onda del pico de la plata sea más larga que la correspondiente del plomo, refleja el número atómico más bajo de este elemento comparado con el plomo.

Coefficiente de absorción másico

La ley de Beer es tan aplicable a los procesos de absorción de rayos X como a otros tipos de radiación electromagnética; así, puede escribirse

$$\ln \frac{P_0}{P} = \mu x$$

donde x es el espesor de la muestra en centímetros y P y P_0 son las potencias de los haces transmitido e incidente. La constante μ se llama *coeficiente de absorción lineal* y es característico del elemento, y del número de átomos que se encuentran en la trayectoria del haz. Una manera más adecuada de escribir la ley de Beer es

$$\ln \frac{P_0}{P} = \mu_M \rho x \quad (12-3)$$

donde ρ es la densidad de la muestra y μ_M es el *coeficiente de absorción másico*, un parámetro que es *independiente* del estado físico y químico del elemento. Así, el coeficiente de absorción másico del bromo tiene el mismo valor tanto para el HBr gaseoso como para el bromato de sodio sólido. Hay que señalar que el coeficiente de absorción másico tiene unidades de cm^2/g .

Los coeficientes de absorción másicos son funciones aditivas de las fracciones en peso de los elementos contenidos en una muestra. Así,

$$\mu_M = W_A \mu_A + W_B \mu_B + W_C \mu_C + \dots \quad (12-4)$$

donde μ_M es el coeficiente de absorción másico de una muestra que contiene fracciones en peso W_A , W_B y W_C de los elementos A, B y C. Los términos, μ_A , μ_B y μ_C son los respectivos coeficientes de absorción másicos para cada uno de los elementos. En muchas guías (handbooks) y monografías se encuentran tablas de coeficientes de absorción másicos de los elementos a varias longitudes de onda⁵.

12A-3. Fluorescencia de rayos X

La absorción de rayos X produce iones excitados electrónicamente que vuelven a su estado fundamental mediante transiciones que involucran a los electrones de los niveles de mayor energía. Así, cuando el plomo absorbe radiación de longitudes de onda más corta que 0,14 Å (Fig. 12-5) se produce un ion excitado con una capa K vacante; después de un breve período, el ion vuelve a su estado fundamental a través de una serie de transiciones electrónicas caracterizadas por la emisión de radiación X (fluorescencia) de longitudes de onda idénticas a las que resultaron de la excitación producida por el bombardeo de electrones. Sin embargo, las longitudes de onda de las líneas fluorescentes son siempre algo mayores que la longitud de onda correspondiente a una discontinuidad de absorción ya que la absorción requiere la expulsión completa del electrón (esto es, ionización), mientras que la emisión implica transiciones de un electrón desde un nivel de energía superior dentro del átomo. Por ejemplo, la discontinuidad de absorción K para la plata tiene lugar a 0,485 Å, mientras que las líneas de emisión para el elemento tienen longitudes de onda de 0,497 y 0,559 Å. Cuando la fluorescencia se excita por la radiación procedente de un tubo de rayos X, el potencial de trabajo debe ser suficientemente grande para que la longitud de onda mínima o límite λ_0 (Ecuación 12-2) sea más corta que la discontinuidad de absorción del elemento que se excita. Así, para generar las líneas K de la plata, el potencial del tubo necesitaría ser (Ecuación 12-2)

$$V \geq \frac{12.398 \text{ V} \cdot \text{Å}}{0,485 \text{ Å}} = 25.560 \text{ V o } 25,6 \text{ kV}$$

12A-4. Difracción de rayos X

Al igual que con los otros tipos de radiación electromagnética, la interacción entre el vector eléctrico de la radiación X y los electrones de la materia que atraviesa da lugar a una dispersión. Cuando los rayos X son dispersados por el entorno ordenado de un cristal, tienen lugar interferencias (tanto constructivas como destructivas) entre los rayos dispersados, ya que las distancias entre los centros

⁵ Por ejemplo, E. P. Bertin, *Principles and Practice of X-Ray Spectrometric Analysis*, 2.ª ed., págs. 972-976. New York: Plenum Press, 1975.

de dispersión son del mismo orden de magnitud que la longitud de onda de la radiación. El resultado es la difracción.

Ley de Bragg

Cuando un haz de rayos X choca contra la superficie de un cristal formando un ángulo θ , una porción del haz es dispersada por la capa de átomos de la superficie. La porción no dispersada del haz penetra en la segunda capa de átomos donde, de nuevo, una fracción es dispersada y la que queda pasa a la tercera capa (Fig. 12-6). El efecto acumulativo de esta dispersión producida por los centros regularmente espaciados del cristal es la difracción del haz, de la misma forma que la radiación visible se difracta en un red de reflexión (Apartado 7C-2). Los requisitos para la difracción de rayos X son: (1) que el espaciado entre las capas de átomos sea aproximadamente el mismo que la longitud de onda de la radiación y (2) que los centros de dispersión estén distribuidos en el espacio de una manera muy regular.

En 1912, W. L. Bragg trató la difracción de rayos X por cristales como muestra la Figura 12-6. En este caso, un haz estrecho de radiación choca contra la superficie del cristal formando un ángulo θ ; la dispersión tiene lugar como consecuencia de la interacción de la radiación con los átomos localizados en O , P y R . Si la distancia

$$AP + PC = n\lambda$$

donde n es un número entero, la radiación dispersada estará en fase en OCD y el cristal parecerá reflejar la radiación X. Pero

$$AP = PC = d \sin \theta \quad (12-5)$$

donde d es la distancia interplanar del cristal. Así, se puede escribir que las condiciones para que tenga lugar una interferencia constructiva del haz que forma un ángulo θ con la superficie del cristal, son

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (12-6)$$

La Ecuación 12-6 se llama *ecuación de Bragg* y es de capital importancia. Hay que señalar que los rayos X son reflejados por el cristal sólo si el ángulo de incidencia satisface la condición

$$\sin \theta = \frac{n\lambda}{2d}$$

Para todos los demás ángulos, tienen lugar interferencias destructivas.

12B. COMPONENTES DE LOS INSTRUMENTOS

La absorción, emisión, fluorescencia y difracción de rayos X, tienen aplicación en química analítica. Los componentes de los instrumentos que se usan en estas aplicaciones funcionan de manera análoga a los cinco componentes de los instrumentos empleados en las medidas realizadas en espectroscopia óptica; estos componentes incluyen una fuente, un dispositivo encargado de seleccionar el intervalo de longitud de onda de la radiación incidente, un soporte para la muestra, un detector de radiación o transductor, un procesador de la señal y un dispositivo de lectura. Estos componentes difieren considerablemente, en cuanto a los detalles, de sus homólogos ópticos. Sin embargo, sus funciones son

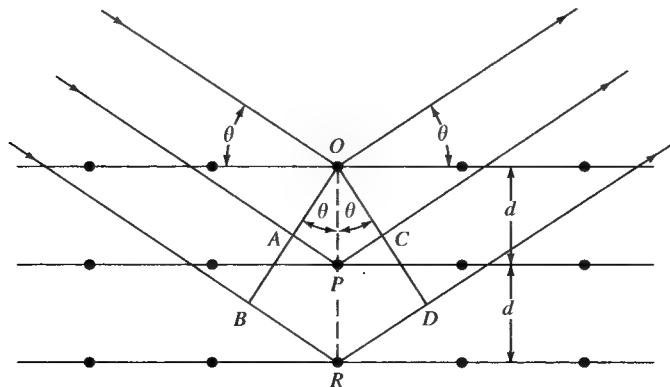


Figura 12-6. Difracción de rayos X producida por un cristal.

las mismas y los modos en que se combinan para formar un instrumento suelen ser parecidos a los que se muestran en la Figura 7-1 (página 152).

Al igual que con los instrumentos ópticos, existen tanto fotómetros como espectrofotómetros de rayos X, los primeros emplean filtros y los segundos monocromadores para seleccionar la radiación procedente de la fuente. Sin embargo, se dispone, además, de un tercer método para obtener información sobre partes aisladas de un espectro de rayos X. En este caso el aislamiento se consigue electrónicamente con dispositivos que tienen el poder de discriminar entre varias partes del espectro según la *energía* de la radiación en lugar de la *longitud de onda*. Por ello, los instrumentos de rayos X se designan, a menudo, como *instrumentos dispersivos de longitudes de onda* o *instrumentos dispersivos de energías* dependiendo del método por el cual resuelven los espectros.

12B-1. Fuentes

En los instrumentos de rayos X se pueden encontrar tres tipos de fuentes: tubos, radioisótopos y fuentes de fluorescencia secundaria.

El tubo de rayos X

La fuente más habitual de rayos X para el trabajo analítico es el tubo de rayos X (algunas veces llamado *tubo de Coolidge*), que puede adoptar una gran variedad de formas; en la Figura 12-7 se muestra esquemáticamente un diseño del mismo. Una fuente de rayos X es un tubo a alto vacío en el que se instala un cátodo de filamento de wolframio y un ánodo sólido. El ánodo consta, normalmente, de un bloque pesado de cobre con un blanco de metal dispuesto sobre o empotrado en la superficie del cobre. Los materiales que constituyen el blanco incluyen metales como wolframio, cromo, cobre, molibdeno, rodio, escandio, plata, hierro y cobalto. Se utilizan circuitos separados para calentar el filamento y para acelerar los electrones hacia el blanco. El circuito de calentamiento permite controlar la intensidad de los rayos X emitidos mientras que el potencial de aceleración determina su energía o longitud de onda. Para el trabajo cuantitativo, ambos circuitos deben trabajar con fuentes de alimentación estabilizadas que controlen hasta el 0,1 por 100 relativo de la corriente o el potencial.

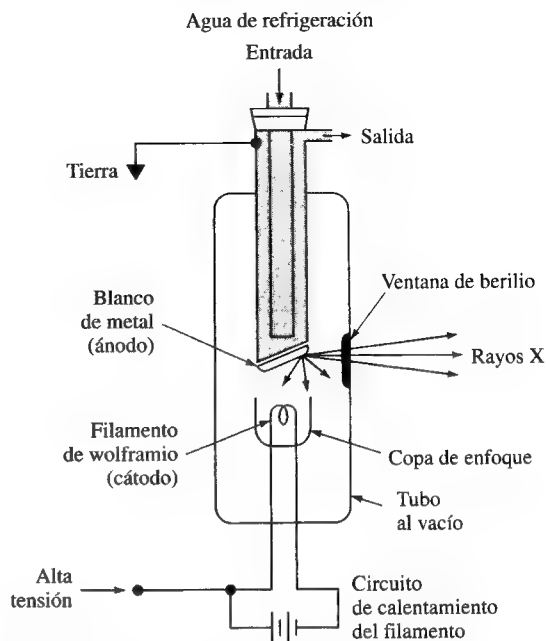


Figura 12-7. Esquema de un tubo de rayos X.

La producción de rayos X por bombardeo de electrones es un proceso altamente ineficaz. Menos del uno por ciento de la potencia eléctrica se convierte en potencia radiante, la restante se disipa como calor. Como consecuencia, hasta hace relativamente poco, era necesario utilizar agua para refrigerar los ánodos de los tubos de rayos X. Sin embargo, con los equipos modernos la refrigeración es, a menudo, innecesaria, ya que los tubos pueden trabajar a una potencia significativamente más baja. Esta reducción en la potencia es posible debido a la mayor sensibilidad de los modernos detectores de rayos X.

Radioisótopos

Diversas sustancias radiactivas se han utilizado como fuentes en métodos de fluorescencia y de absorción de rayos X (véase Tabla 12-2). Generalmente, el radioisótopo se encapsula para prevenir la contaminación del laboratorio y se protege para que absorba radiación sólo en determinadas direcciones.

Muchas de las mejores fuentes radiactivas proporcionan espectros de líneas sencillos; otras producen un espectro continuo (véase Tabla 12-2). Debido a la forma de las curvas de absorción de rayos X, un determinado radioisótopo será adecua-

do para la excitación de fluorescencia o para estudios de absorción de un cierto número de elementos. Por ejemplo, una fuente que produce una línea en la región comprendida entre 0,3 y 0,47 Å será adecuada para los estudios de fluorescencia y de absorción que involucren la discontinuidad de absorción K de la plata (véase Fig. 12-5). La sensibilidad mejorará cuando la longitud de onda de la línea emitida por la fuente se aproxime a la discontinuidad de absorción. Desde este punto de vista, el yodo-125 con una línea a 0,46 Å sería ideal para la determinación de plata.

Fuentes fluorescentes secundarias

En algunas aplicaciones, el espectro de fluorescencia de un elemento que ha sido excitado mediante la radiación de un tubo de rayos X sirve como fuente para estudios de absorción y fluorescencia. Este montaje tiene la ventaja de eliminar la componente continua emitida por una fuente primaria. Por ejemplo, un tubo de rayos X con un blanco de wolframio (Fig. 12-1) podría utilizarse para excitar las líneas K_α y K_β del molibdeno (Fig. 12-2). El espectro de fluorescencia resultante sería entonces similar al espectro de la Figura 12-2 con la diferencia de que la componente continua no estaría presente.

12B-2. Filtros de rayos X

En muchas aplicaciones, es deseable utilizar un haz de rayos X con un intervalo de longitudes de onda restringido. Con este objetivo, al igual que en la región visible, se utilizan tanto filtros como monocromadores.

La Figura 12-8 ilustra una técnica habitual para producir un haz relativamente monocromático utilizando un filtro. En este caso, la línea K_β y la mayor parte de la radiación continua emitida por un blanco de molibdeno se elimina mediante un filtro de circonio con un espesor próximo a 0,01 cm. De esta manera se puede disponer de la línea K_α pura para fines analíticos. Se han desarrollado otras combinaciones blanco-filtro de este tipo, cada una de ellas sirve para aislar una de las líneas intensas del elemento utilizado como blanco. La radiación monocromática producida de esta manera es muy utilizada en los estudios de difracción de rayos X. La elección de las longitudes de onda que se pueden obtener con esta técnica está limitada por el

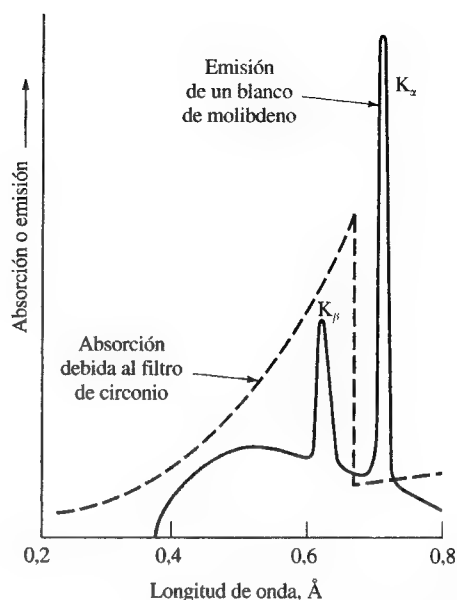


Figura 12-8. Utilización de un filtro para producir radiación monocromática.

número, relativamente pequeño, de combinaciones blanco-filtro que pueden usarse.

También es factible filtrar la radiación continua de un tubo de rayos X con finas láminas de metal. Como con los filtros de vidrio empleados para la radiación visible, se transmiten bandas relativamente anchas con una atenuación significativa de las longitudes de onda deseadas.

12B-3. Monocromadores para rayos X

La Figura 12-9 muestra los componentes esenciales de un espectrómetro de rayos X. El monocromador consta de un elemento dispersante y de un par de colimadores del haz, que tienen la misma finalidad que las rendijas en un instrumento óptico. El elemento dispersante es un monocristal instalado sobre un *goniómetro* o placa rotatoria que permite variar y determinar de forma precisa el ángulo θ , formado por la cara del cristal y el haz incidente colimado. A partir de la Ecuación 12-6, es evidente que para un ángulo dado, elegido con el goniómetro, sólo se difractan algunas longitudes de onda (λ , $\lambda/2$, $\lambda/3$, ... λ/n , donde $\lambda = 2d \sin \theta$).

Para obtener un espectro, es necesario que el colimador del haz de salida y el detector estén colocados sobre un segundo soporte que gire a doble velocidad que el primero; esto es, cuando el cristal

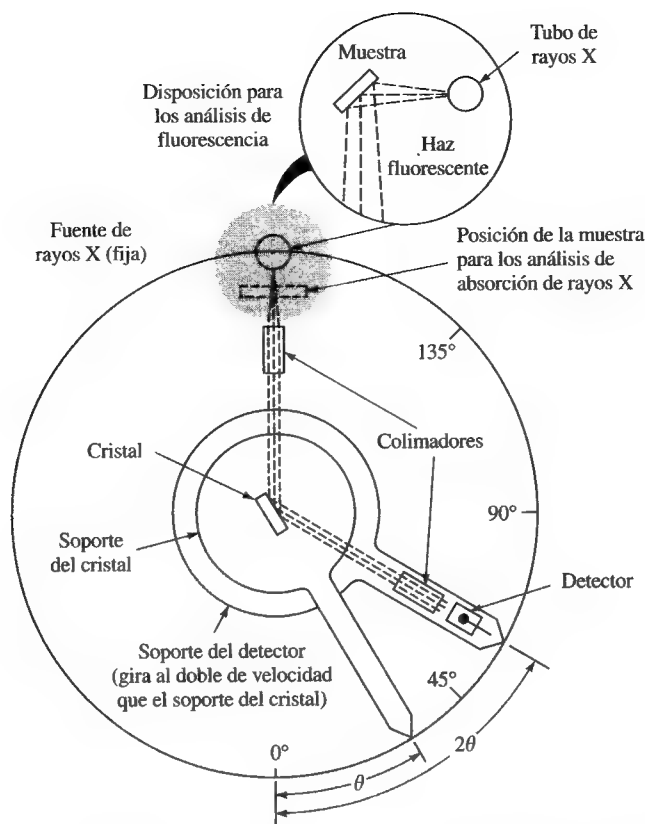


Figura 12-9. Monocromador y detector de rayos X. Obsérvese que el ángulo que forma el detector con el haz (2θ) es el doble que el que forma con la cara del cristal. Para los análisis de absorción, la fuente es un tubo de rayos X y la muestra se coloca en el haz tal como se muestra. Para los trabajos de emisión, la muestra se transforma en una fuente fluorescente de rayos X como se muestra en la parte del círculo ampliado.

gira un ángulo θ , el detector debe desplazarse simultáneamente un ángulo 2θ . Naturalmente, el espaciado interplanar d , del cristal debe conocerse con precisión (Ecuación 12-6).

Los colimadores de los monocromadores de rayos X constan, normalmente, de una serie de placas o tubos de metal poco espaciados que absorben todos los haces de radiación excepto los paralelos.

La radiación X de longitud de onda superior a aproximadamente $2 \text{ \AA}$ es absorbida por los componentes de la atmósfera. Por ello, cuando se necesitan longitudes de onda largas se suministra un flujo continuo de helio a través del compartimento de la muestra y del monocromador. Como alternativa se puede hacer el vacío en estas áreas mediante bombas de vacío.

En un monocromador equipado con un cristal plano la pérdida de intensidad es alta, ya que hasta el 99 por 100 de la radiación es lo suficientemente

divergente como para ser absorbida en los colimadores. Las intensidades se pueden incrementar, al menos, en un factor de diez, utilizando superficies cristalinas curvadas que consiguen, no sólo la difracción sino también el enfoque del haz divergente de la fuente sobre el colimador de salida.

Como se ilustra en la Tabla 12-1, la mayoría de las líneas de rayos X importantes analíticamente se encuentran en la región comprendida entre alrededor de $0,1$ y $10 \text{ \AA}$. Sin embargo, la observación de los datos de la Tabla 12-3, conduce a la conclusión de que un solo cristal no dispersa satisfactoriamente la radiación en todo este intervalo. Como consecuencia, un monocromador de rayos X debe estar provisto, al menos, de dos (y preferiblemente de más) cristales intercambiables.

El intervalo de longitud de onda útil de un cristal está determinado por el espaciado entre los planos de la red del mismo d y los problemas asocia-

TABLA 12-3. Propiedades de los cristales de difracción característicos

Cristal	Espaciado de la red d , Å	Intervalo de longitudes de onda ^a , Å		Dispersión $d\theta/d\lambda$, grado/Å	
		$\lambda_{\text{máx}}$	$\lambda_{\text{mín}}$	a $\lambda_{\text{máx}}$	a $\lambda_{\text{mín}}$
Topacio	1,356	2,67	0,24	2,12	0,37
LiF	2,014	3,97	0,35	1,43	0,25
NaCl	2,820	5,55	0,49	1,02	0,18
EDDT ^b	4,404	8,67	0,77	0,65	0,11
ADP ^c	5,325	10,50	0,93	0,54	0,09

^a Basado en el supuesto de que el intervalo medible de 2θ va de 160 grados para $\lambda_{\text{máx}}$ a 10 grados para $\lambda_{\text{mín}}$.

^b d -tartrato de etilenodiamina.

^c Dihidrógeno fosfato de amonio.

dos con la detección de la radiación cuando 2θ se acerca a cero o a 180 grados. Cuando el monocromador se sitúa formando un ángulo 2θ , muy inferior a 10 grados, la cantidad de radiación policromática dispersada en la superficie llega a ser prohibitivamente elevada. Generalmente, no pueden medirse valores de 2θ mayores de 160 grados, ya que la localización de la fuente impide la colocación del detector en este ángulo (véase Fig. 12-9). Los valores mínimo y máximo de $\lambda_{\text{máx}}$ de la Tabla 12-3 se determinaron a partir de estas limitaciones.

En la Tabla 12-3 se puede ver que un cristal como el dihidrógeno fosfato de amonio, con espaciado de red grande, tiene un intervalo de longitud de ondas mucho mayor que un cristal en el cual este parámetro es pequeño. La ventaja de valores grandes de d se contrarresta, sin embargo, por la consecuente disminución de la dispersión. Este efecto puede verse al diferenciar la Ecuación 12-6, obteniendo

$$\frac{d\theta}{d\lambda} = \frac{n}{2d \cos \theta}$$

En este caso se ve que, $d\theta/d\lambda$, una medida de la dispersión, es inversamente proporcional a d . La Tabla 12-3 proporciona datos de dispersión para varios cristales a sus longitudes de onda máximas y mínimas. La baja dispersión del dihidrógeno fosfato de amonio impide su uso en la región de longitudes de onda cortas; en estos casos, se debe sustituir por un cristal como el topacio o el fluoruro de litio.

12B-4. Detectores de rayos X y procesadores de señal

Los primeros equipos de rayos X utilizaban emulsiones fotográficas para la detección y medida de la radiación. Sin embargo, por razones de comodidad, velocidad y precisión, los instrumentos modernos están equipados, generalmente, con detectores que convierten la energía radiante en una señal eléctrica. Se pueden encontrar tres tipos de detectores: detectores de gas, contadores de centelleo y detectores semiconductores. Antes de considerar cada una de las funciones de estos dispositivos, vale la pena hablar del *recuento de fotones*, un método de procesamiento de la señal que se suele utilizar en los detectores de rayos X al igual que en los detectores de radiación procedente de una fuente radiactiva (Capítulo 32). Tal como ya se ha mencionado (Apartado 7F-1), el recuento de fotones también se utiliza en espectroscopia ultravioleta y visible.

Recuento de fotones

A diferencia de los distintos detectores fotoeléctricos considerados hasta ahora, los detectores de rayos X operan, normalmente, como *contadores de fotones*. En esta modalidad de trabajo, cuando un cuanto de radiación es absorbido por el transductor se producen impulsos de carga individuales, que se cuentan; la potencia del haz se registra entonces digitalmente en términos de número de cuentas por unidad de tiempo. El recuento de fotones requiere tiempos de respuesta del transductor y del procesador de la señal rápidos para que la llegada de los fotones individuales se pueda medir con exactitud y se pueda registrar. Además, la técnica es aplicable sólo a haces de intensidad relativamente baja. Cuando la intensidad del haz aumenta, los impulsos fotónicos comienzan a solaparse y sólo se puede medir la corriente estable que representa un valor promedio de los impulsos por segundo. Si el tiempo de respuesta del transductor es largo, se produce el solapamiento de impulsos en los haces de intensidad relativamente baja. Cuando su tiempo de respuesta se hace más corto, el transductor es más capaz de detectar fotones individuales sin solapamiento de impulsos.

Para fuentes de radiación débiles, el recuento de fotones proporciona, generalmente, datos más precisos de intensidad que los obtenidos por medida de las corrientes promedio. La mejora se puede

atribuir al hecho de que los impulsos de la señal son, generalmente, mayores que los impulsos que provienen del ruido de fondo de la fuente, del detector y de la electrónica asociada; la separación de la señal del ruido se puede conseguir con un *discriminador de alturas de impulsos*, dispositivo electrónico que se discutirá en un apartado posterior.

El recuento de fotones se utiliza al trabajar con rayos X porque la potencia de las fuentes disponibles es, a menudo, baja. Además, el recuento de fotones permite obtener espectros sin utilizar monocromador. Esta propiedad se considera en el apartado dedicado a los sistemas dispersivos de energías.

Detectores de gas

Cuando la radiación X pasa a través de un gas inerte como el argón, xenón o criptón, tienen lugar interacciones que producen un gran número de iones gaseosos positivos y de electrones (pares iónicos) por cada fotón de rayos X. Existen tres tipos de detectores de radiación X, denominados, *cámaras de ionización*, *contadores proporcionales* y *tubos Geiger*, que se basan en el aumento de conductividad que resulta de este fenómeno.

En la Figura 12-10 se muestra esquemáticamente un detector de gas característico. La radiación entra en la cámara a través de una ventana transparente de mica, berilio o Mylar. Cada fotón de rayos X puede interaccionar con un átomo de argón, causando la pérdida de uno de sus electrones externos. Este *fotoelectrón* tiene una elevada energía cinética, que es igual a la diferencia entre la energía del fotón de rayos X y la energía del electrón en el átomo de argón. El fotoelectrón pierde entonces este exceso de energía cinética ionizando a varios cientos de átomos adicionales del gas. Bajo la influencia de un potencial aplicado, los electrones móviles migran hacia el

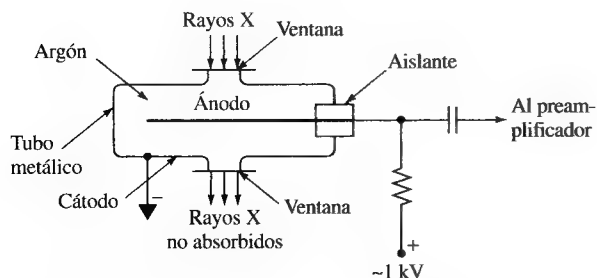


Figura 12-10. Sección transversal de un detector de gas.

ánodo, filamento central, mientras que los cationes, que se mueven más despacio, son atraídos hacia el cátodo cilíndrico de metal.

La Figura 12-11 muestra el efecto del potencial aplicado sobre el número de electrones que alcanza el ánodo de un detector de gas por cada fotón de rayos X que entra. Se indican tres regiones de potencial características. A potenciales inferiores a V_1 la fuerza de aceleración sobre los pares iónicos es baja y la velocidad a la que se separan las especies positivas y negativas es insuficiente para evitar la recombinación parcial. Como consecuencia, el número de electrones que alcanza el ánodo es menor que el número producido inicialmente por la radiación que entra.

En la *región de la cámara de ionización* entre V_1 y V_2 , el número de electrones que alcanza el ánodo es razonablemente constante y representa el número total formado por un único fotón.

En la *región del contador proporcional* entre V_3 y V_4 , el número de electrones aumenta rápidamente con el potencial aplicado. Este aumento es el resultado de la producción de pares iónicos secundarios como consecuencia de colisiones entre los

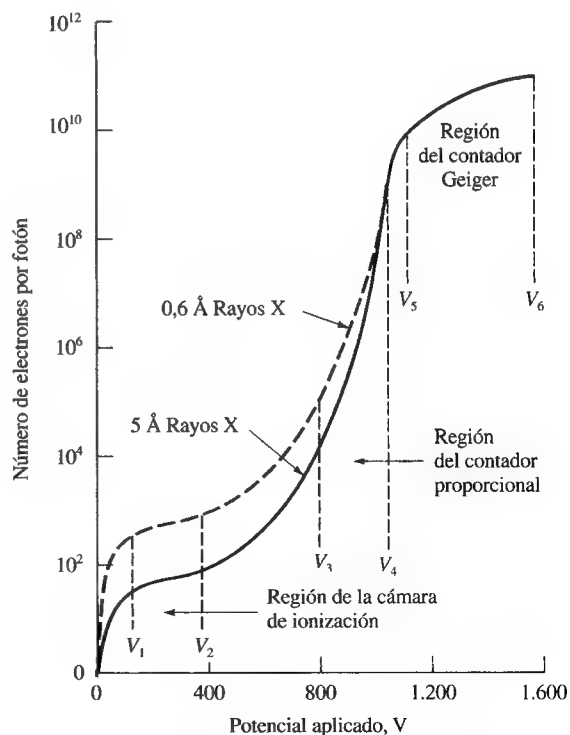


Figura 12-11. Amplificación debida al gas para varios tipos de detectores de gas.

electrones acelerados y las moléculas de gas; el resultado es una amplificación de la corriente iónica (*amplificación gaseosa*).

En el *intervalo Geiger* de V_5 a V_6 , la amplificación del impulso eléctrico es enorme pero está limitada por la carga espacial positiva creada por el movimiento más rápido de los electrones que se alejan de los iones positivos, más lentos. Debido a este efecto, el número de electrones que alcanza el ánodo es independiente del tipo y de la energía de la radiación que llega y, en cambio, está gobernado por la geometría y la presión del gas en el tubo.

La Figura 12-11 muestra también que la radiación más energética, 0,6 Å, produce un número mayor de electrones que los rayos X de longitud de onda más larga, 5 Å. Así, el tamaño del impulso (la altura del impulso) es mayor para rayos X de alta frecuencia que para rayos X de baja frecuencia.

Tubo Geiger

El tubo Geiger es un detector de gas que opera en la región de potencial comprendida entre V_5 y V_6 , tal como se muestra en la Figura 12-11; en este caso, la amplificación debida al gas es superior a 10^9 . Cada fotón produce una avalancha de electrones y de cationes; así, las corrientes resultantes son grandes y relativamente fáciles de detectar y medir.

La conducción de la corriente eléctrica a través de una cámara que opera en la región Geiger, así como en la región proporcional, no es continua, ya que la carga espacial mencionada anteriormente interrumpe el flujo de electrones hacia el ánodo. El efecto neto es un impulso de corriente momentáneo seguido de un intervalo durante el cual el tubo no conduce. Antes de que tenga lugar, de nuevo, la conducción, esta carga espacial se tiene que disipar por la migración de los cationes hacia las paredes de la cámara. Durante el *tiempo muerto*, en el que el tubo no es conductor, es imposible una respuesta a la radiación; por tanto, el tiempo muerto representa el límite inferior en el tiempo de respuesta del tubo. Normalmente, el tiempo muerto de un tubo Geiger oscila entre 50 y 200 μs .

Normalmente, los tubos Geiger están llenos de argón; también está presente una pequeña concentración de un gas amortiguador, una sustancia orgánica, a menudo alcohol o metano, para minimizar la producción de electrones secundarios cuando los cationes chocan contra las paredes de la cámara. El tiempo de vida de un tubo está limitado de

unas 10^8 a 10^9 cuentas, después de las cuales el amortiguador se agota.

Con un tubo Geiger, la intensidad de la radiación se determina mediante el recuento de los impulsos de corriente. El dispositivo se puede aplicar a todos los tipos de radiación-X y nuclear. Sin embargo, carece del amplio intervalo de recuento de otros detectores debido a su tiempo muerto relativamente largo; este hecho limita su uso en los espectrómetros de rayos X. A pesar de que las aplicaciones cuantitativas de los detectores de tubo Geiger han disminuido, es frecuente encontrar, todavía, detectores de este tipo en aquellas circunstancias en las cuales la facilidad de transporte adquiere importancia.

Contadores proporcionales

El contador proporcional es un detector de gas que opera en la región de potencial comprendida entre V_3 y V_4 de la Figura 12-11. En este caso, el impulso producido por un fotón se amplifica por un factor de 500 a 10.000, pero el número de iones positivos producido es tan pequeño que el tiempo muerto es sólo de 1 μs . En general, los impulsos de un tubo contador proporcional deben amplificarse antes de ser contados.

El número de electrones por impulso, que es proporcional a la *altura del impulso* producido en la región proporcional, depende directamente de la energía y, por tanto, de la *frecuencia* de la radiación que llega. Un contador proporcional se puede hacer sensible a un intervalo restringido de frecuencias de rayos X empleando un *analizador de alturas de impulsos*, el cual cuenta un impulso tan sólo si su amplitud entra dentro de ciertos límites. Un analizador de alturas de impulsos permite, de hecho, la selección electrónica de la radiación; su función es parecida a la de un monocromador.

Los contadores proporcionales se han utilizado mucho como detectores en los espectrómetros de rayos X.

Cámaras de ionización

Las cámaras de ionización operan en el intervalo de potencial comprendido entre V_1 y V_2 de la Figura 12-11. En este caso, las corrientes son pequeñas (normalmente de 10^{-13} a 10^{-16} A) y relativamente independientes del potencial aplicado. Las cámaras de ionización no se utilizan en espectrometría de rayos X debido a su falta de sensibilidad. Sin embargo, pueden encontrar aplicaciones, en medidas radioquímicas, que se consideran en el Capítulo 32.

Contadores de centelleo

La luminiscencia producida cuando la radiación choca con un centelleador representa uno de los métodos más antiguos de detección de radiactividad y de rayos X y, a la vez, uno de los más nuevos. En sus primeras aplicaciones, la técnica consistía en el recuento manual de los destellos que resultaban cuando los fotones individuales o las partículas radioquímicas chocaban contra una pantalla de sulfuro de cinc. El tedio del recuento visual de los destellos individuales llevó a Geiger a desarrollar los detectores de gas, que no sólo eran más prácticos y más fiables sino también más sensibles a la radiación. Sin embargo, la llegada del tubo fotomultiplicador (Apartado 7E-2) y la mejor calidad de los centelleadores han invertido los papeles y el contador de centelleo es, otra vez, uno de los métodos importantes para la detección de la radiación.

El detector de centelleo moderno más utilizado consta de un cristal transparente de yoduro de sodio que se ha activado mediante la introducción de aproximadamente un 0,2 por 100 de yoduro de talio. A menudo, el cristal tiene forma de cilindro de unos 7,5 a 10 cm en cada dirección; una de las superficies planas está situada enfrente del cátodo de un tubo fotomultiplicador. Cuando la radiación incidente atraviesa el cristal, en primer lugar su energía se pierde en el centelleador; esta energía se libera posteriormente en forma de fotones de radiación fluorescente. Por cada partícula primaria o fotón se producen varios miles de fotones con una longitud de onda de alrededor a 400 nm, en un tiempo de 0,25 μs , que se conoce como *tiempo muerto*. El tiempo muerto de un contador de centelleo es, así, significativamente más pequeño que el tiempo muerto de un detector de gas.

Los destellos de luz producidos en un cristal centelleador se transmiten al fotocátodo de un tubo fotomultiplicador y, a su vez, se convierten en impulsos eléctricos que se pueden amplificar y contar. Una característica importante de los centelleadores es que el número de fotones producidos en cada destello es proporcional a la energía de la radiación incidente. Así, la incorporación de un analizador de altura de impulsos al monitor de salida de la señal de un contador de centelleo constituye la base de los fotómetros dispersivos de energías, que se discutirán más adelante.

Además de los cristales de yoduro de sodio, se han utilizado un cierto número de centelleadores orgánicos como el estilbeno, el antraceno y el ter-

fenilo. Estos compuestos, en forma cristalina, tienen tiempos de desactivación de 0,01 y 0,1 μs . Se han desarrollado también centelleadores orgánicos líquidos, y su utilización ofrece ventajas, ya que presentan menos autoabsorción de la radiación que los sólidos. Un ejemplo de un centelleador líquido es una disolución de *p*-terfenilo en tolueno.

Detectores semiconductores

Los detectores semiconductores han adquirido una gran importancia como detectores de rayos X. Estos dispositivos se llaman a veces *detectores de silicio dopados con litio*, Si(Li) o *detectores de germanio dopados con litio*, Ge(Li).

La Figura 12-12 muestra un tipo de detector dopado con litio, cuyo principal componente es una lámina fina de silicio cristalino. En el cristal existen tres capas, una capa semiconductor tipo *p* que se coloca frente a la fuente de rayos X, una zona *intrínseca* central y una capa tipo *n*. La superficie más externa de la capa tipo *p* se recubre con una fina capa de oro que permite la conexión eléctrica; a menudo, se cubre también con una fina ventana de berilio que es transparente a los rayos X. La señal de salida se recoge en una capa de aluminio que recubre el silicio tipo *n*; esta señal de salida se dirige a un preamplificador con un factor de amplificación de alrededor de 10. El preamplificador es, con frecuencia, un transistor de efecto de campo que constituye una parte integral del detector.

Un detector dopado con litio se consigue por deposición de vapor de litio sobre la superficie de un cristal de silicio tipo-*p*. Cuando se calienta de 400 a 500 °C, el litio difunde hacia el interior del cristal; como este elemento pierde electrones fácilmente, su presencia convierte la región tipo *p* en tipo *n*. Mientras se mantiene a temperatura elevada, se aplica un potencial de corriente continua a través del cristal para provocar la retirada de los electrones de la capa de litio y la de los huecos de la capa tipo *p*. La corriente a través de la unión *np* requiere la migración, o acumulación, de *iones* litio en la capa *p* y la formación de la capa intrínseca donde los iones litio reemplazan los huecos perdidos por conducción. Cuando se enfría, la capa central tiene una elevada resistencia relativa respecto a las otras capas, ya que los iones litio en este medio son menos móviles que los huecos desplazados.

Las funciones de la capa intrínseca en un detector de silicio son análogas a las del argón en un detector de gas. Inicialmente, la absorción de un

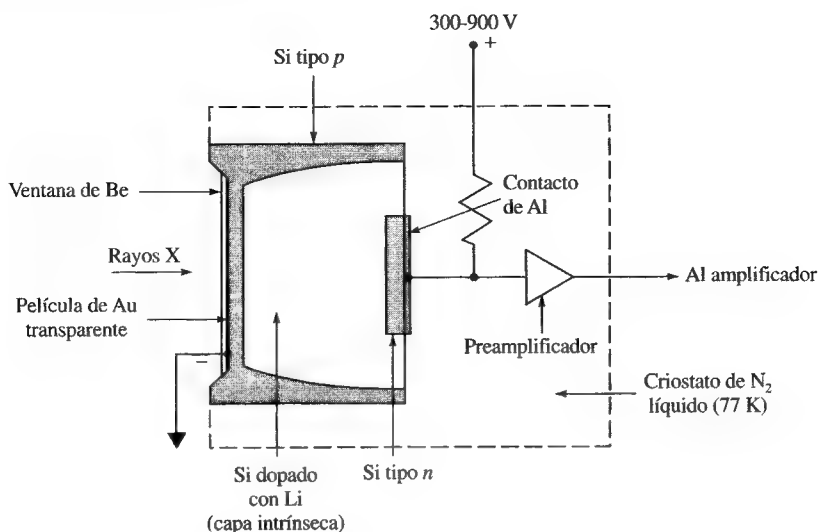


Figura 12-12. Sección vertical de un detector de silicio dopado con litio para rayos X y radiación procedente de fuentes radiactivas.

fotón da lugar a la formación de un fotoelectrón muy energético, el cual pierde su energía cinética al pasar a varios miles de electrones del silicio a la banda de conducción, lo que da lugar a un marcado aumento de la conductividad. Cuando se aplica un potencial a través del cristal, la absorción de cada fotón produce un impulso de corriente. Al igual que en un detector proporcional, el tamaño del impulso es directamente proporcional a la energía de los fotones absorbidos. Sin embargo, a diferencia de los detectores proporcionales, no tiene lugar la amplificación secundaria del impulso.

Tal como se muestra en la Figura 12-12, el detector y el preamplificador de un detector dopado con litio deben estar termostatzados a la temperatura del nitrógeno líquido (77 K) para reducir el ruido electrónico a un nivel tolerable. Los detectores originales de Si(Li) tenían que refrigerarse continuamente, ya que a temperatura ambiente los átomos de litio podían difundir a través del silicio, degradando de ese modo el funcionamiento del detector. Los detectores de Si(Li) modernos tan sólo necesitan refrigerarse durante su uso.

Se utiliza el germanio en lugar del silicio para dar detectores dopados con litio que son particularmente útiles en la detección de radiación de longitud de onda inferior a 0,3 Å. Estos detectores deben refrigerarse en todo momento. A partir de germanio muy puro se han fabricado detectores de germanio que no requieren la impurificación de litio. Estos detectores se llaman *detectores de germanio*

intrínseco y necesitan refrigerarse tan sólo durante su uso.

Distribución de las alturas de los impulsos de los detectores de radiación X

Para entender las propiedades de los espectrómetros dispersivos de energías es importante apreciar que el tamaño de los impulsos de corriente que resultan de la absorción por el detector de sucesivos fotones de rayos X de idéntica energía no serán exactamente los mismos. Las variaciones se deben a que la expulsión de los fotoelectrones y la subsecuente generación de electrones de conducción son procesos aleatorios gobernados por las leyes de probabilidad. Por ello, se observa una distribución gaussiana de las alturas de los impulsos alrededor de un valor medio. La anchura de esta distribución varía de un tipo de detector a otro, siendo los detectores semiconductores los que proporcionan bandas de impulsos significativamente más estrechas. Es esta propiedad la que ha hecho que los detectores dopados con litio sean tan importantes en espectroscopia de rayos X dispersiva de energías.

12B-5. Procesadores de señal

La señal del preamplificador de un espectrómetro de rayos X alimenta a un amplificador lineal de respuesta rápida cuya amplificación puede variar-

se en un factor de hasta 10.000. Como resultado se obtienen unos impulsos de potencial del orden de los 10 V.

Selectores de alturas de impulsos

Todos los espectrómetros de rayos X modernos (tanto los dispersivos de longitudes de onda como los dispersivos de energías), están equipados con *discriminadores* que eliminan los impulsos de aproximadamente 0,5 V o menores (después de la amplificación). De esta manera se reduce significativamente el ruido del amplificador y del detector. En lugar de un discriminador, muchos instrumentos están equipados con *selectores de altura de impulso*, que son circuitos electrónicos que eliminan no sólo los impulsos con alturas inferiores a un nivel mínimo predeterminado sino también aquellos con altura superiores a un nivel máximo prefijado; es decir, eliminan todos los impulsos excepto aquellos que se encuentran dentro de un *canal o ventana* de alturas de impulso. La Figura 12-13 muestra el esquema de un selector de altura de impulsos y

su modo de operar. En este caso, los impulsos de salida del detector y del preamplificador son de nuevo amplificados y aparecen como señales de potencial (en el intervalo de 10 V), tal como se muestra en la parte inferior de la figura. Estas señales alimentan a dos circuitos discriminadores, cada uno de los cuales se ajusta para eliminar cualquier señal por debajo de un cierto potencial. Como se muestra en la parte inferior de la Figura 12-13, el discriminador inferior elimina la señal 1, que tiene un potencial inferior a V , pero transmite las señales 2 y 3. Por otra parte, el discriminador superior se ajusta a un potencial $V + \Delta V$ y así elimina todas las señales excepto la 3. Además, el circuito superior está dispuesto de modo que invierta la polaridad de su señal de salida y así anula la señal 3 del circuito inferior, en el circuito anticoincidente. Como consecuencia, sólo la señal 2, con un potencial comprendido entre V y $V + \Delta V$, alcanza el contador.

Los instrumentos dispersivos están equipados, a menudo, con selectores de alturas de impulsos para eliminar el ruido y como complemento del monocromador para separar la línea del analito de

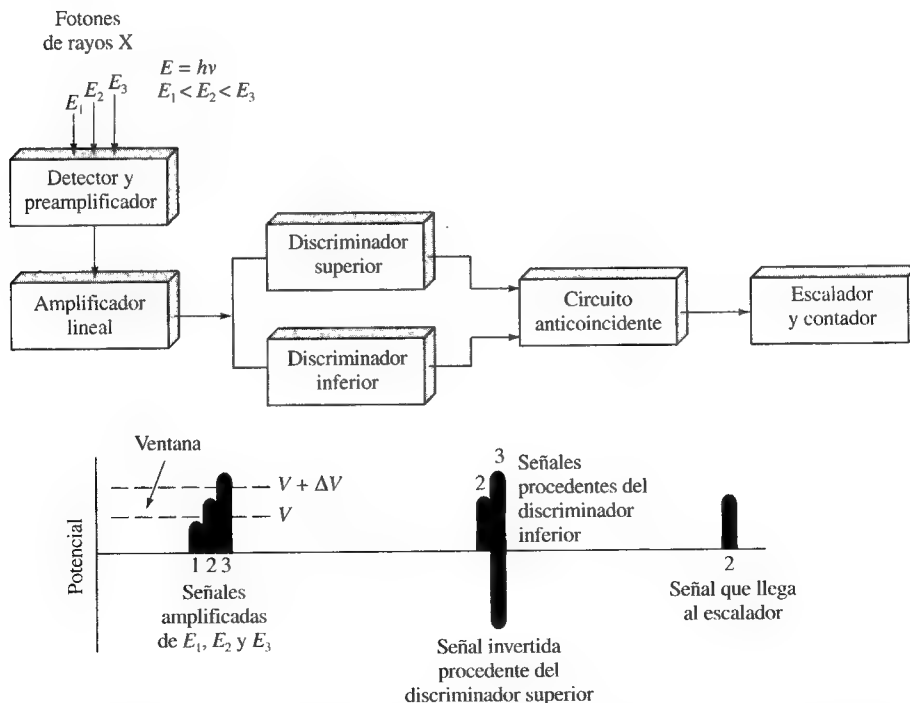


Figura 12-13. Esquema de un selector de altura de señal. El discriminador inferior elimina los impulsos inferiores a V ; el discriminador superior elimina los impulsos inferiores a $V + \Delta V$ e invierte el impulso que queda. La gráfica inferior muestra los impulsos transmitidos en la señal de salida del circuito anticoincidente que se incluye en esta ilustración.

mayor orden, que es la radiación más energética de las difractadas para una posición del cristal dada.

Analizadores de alturas de impulsos

Los analizadores de alturas de impulsos constan de uno o más selectores de alturas de impulsos que se configuran de tal manera que proporcionan los espectros de energía. El analizador de un solo canal tiene normalmente un intervalo de potencial de unos 10 V o superior con una ventana de 0,1 a 0,5 V. La ventana puede ajustarse manual o automáticamente para barrer todo el intervalo de potencial, suministrando así datos para un espectro de dispersión de energías. Los analizadores multicanal normalmente contienen varios cientos de canales separados, cada uno de los cuales actúa como un canal sencillo que corresponde a una ventana de potencial diferente. La señal de cada canal se acumula, entonces, en el espacio de la memoria del analizador que corresponde a la energía del canal, permitiendo, así, el recuento simultáneo y el registro del espectro completo.

Escaladores y contadores

A veces, para obtener velocidades de recuento adecuadas, la señal de salida del detector de rayos X se escalona, esto es, se reduce el número de impulsos dividiendo por algún múltiplo de diez (u ocasionalmente de dos). En el Apartado 4C-4 se encuentra una breve descripción de los escaladores electrónicos. El recuento de los impulsos escalados se lleva actualmente a cabo, en general, con contadores electrónicos como los descritos en los Apartados 4C-2 y 4C-3.

12C. MÉTODOS DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X

A pesar de que es factible excitar la muestra para obtener su espectro de emisión de rayos X situándola en la zona del blanco de un tubo de rayos X, lo incómodo de esta técnica hace que apenas se aplique para muchos tipos de materiales. En cambio, es más corriente que la excitación se consiga mediante la irradiación de la muestra con un haz de rayos X procedente de un tubo de rayos X o de una fuente radiactiva. En estas condiciones, los elementos de la muestra se excitan como consecuencia de la absorción del haz primario y emiten sus propios rayos X fluorescentes característicos. Por

ello, este procedimiento se denomina correctamente, método de *fluorescencia, o emisión, de rayos X*. De entre todos los métodos analíticos, la fluorescencia de rayos X (XRF) es uno de los métodos más utilizados para la identificación cualitativa de elementos que tienen números atómicos mayores que el del oxígeno (>8); además, también se utiliza, a menudo, para el análisis elemental semicuantitativo o cuantitativo⁶. Una ventaja particular de la XRF es que se trata de un método no destructivo de la muestra, característica que no poseen la mayoría de las otras técnicas de análisis elemental.

12C-1. Instrumentos

Diversas combinaciones de los componentes instrumentales tratados en el apartado previo conducen a varios modelos identificables como instrumentos de fluorescencia de rayos X⁷. Los tres tipos básicos son los *dispersivos de longitudes de onda*, los *dispersivos de energías* y los *no dispersivos*; los dos últimos se pueden además subdividir dependiendo de si utilizan como fuente de radiación un tubo de rayos X o una sustancia radiactiva.

Instrumentos dispersivos de longitudes de onda

En los instrumentos dispersivos de longitudes de onda siempre se utilizan tubos como fuente debido a las grandes pérdidas de energía que sufre el haz de rayos X cuando es colimado y dispersado en sus distintas longitudes de onda. La relación entre los fotones de rayos X producidos por las fuentes radiactivas y los producidos por los tubos de rayos X es inferior a 10^{-4} , la atenuación que añade el monocromador da lugar a un haz difícil o imposible de detectar y medir con exactitud.

Los instrumentos dispersivos de longitudes de onda son de dos tipos, de *un solo canal* o *secuencial* y *multicanal* o *simultáneo*. El espectrómetro que se muestra en la Figura 12-9 es un instrumento secuencial que se puede utilizar fácilmente para el análisis por fluorescencia de rayos X; en este instrumento, el tubo de rayos X y la muestra están dispuestos tal y como se muestra en el círculo que aparece en la parte superior de la figura. Los instru-

⁶ Véase R. Jenkins, *X-Ray Fluorescence Spectrometry*. New York: Wiley, 1988.

⁷ Para un tratamiento de los instrumentos de fluorescencia de rayos X modernos, véase R. Jenkins, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, 1099A.

mentos de un solo canal pueden ser manuales o automáticos. Los primeros resultan totalmente satisfactorios para la determinación cuantitativa de algunos elementos. Para esta aplicación, el cristal y el detector se colocan formando ángulos adecuados (θ y 2θ) y el recuento se lleva a cabo de forma continua hasta que se hayan acumulado suficientes cuentas para dar resultados precisos. Para el análisis cualitativo, que requiere el barrido de un espectro completo, son mucho más adecuados los instrumentos automáticos. En estos casos, el mecanismo de arrastre eléctrico del cristal y del detector están sincronizados y la señal de salida del detector está conectada a un sistema de adquisición de datos.

Los espectrómetros de un solo canal más modernos están provistos de dos fuentes de rayos X; normalmente, una tiene un blanco de cromo para las longitudes de onda más largas y la otra un blanco de wolframio para las más cortas. Para longitudes de onda superiores a $2 \text{ \AA}$, es necesario eliminar el aire que se encuentra entre la fuente y el detector mediante una bomba de vacío o por desplazamiento con un flujo continuo de helio. Es necesario, también, disponer de un medio para efectuar los intercambios convenientes de los cristales dispersantes.

Los instrumentos de un solo canal de registro cuestan aproximadamente unos 60.000 dólares.

Los instrumentos dispersivos multicanal son grandes y caros (>150.000 dólares) y permiten la detección y determinación simultánea de hasta 24 elementos. En este caso, los canales individuales constan de un cristal adecuado y de un detector y están ordenados radialmente alrededor de la fuente de rayos X y del soporte de la muestra. Normalmente, los cristales para todos o para la mayoría de los canales están fijos formando un ángulo apropiado para una determinada línea del analito; en algunos instrumentos, se pueden mover uno o más cristales para permitir un barrido espectral.

En un instrumento multicanal, cada detector está provisto de su propio amplificador, selector de alturas de impulso, escalador y contador o integrador. Estos instrumentos están normalmente equipados con un ordenador para el control del instrumento, el tratamiento de los datos y la visualización de los resultados analíticos. Una determinación de 20 o más elementos se puede llevar a cabo entre pocos segundos y pocos minutos.

Los instrumentos multicanal son muy utilizados en la determinación de diversos componentes de materiales industriales tales como aceros, otras aleaciones, cementos, minerales y productos del

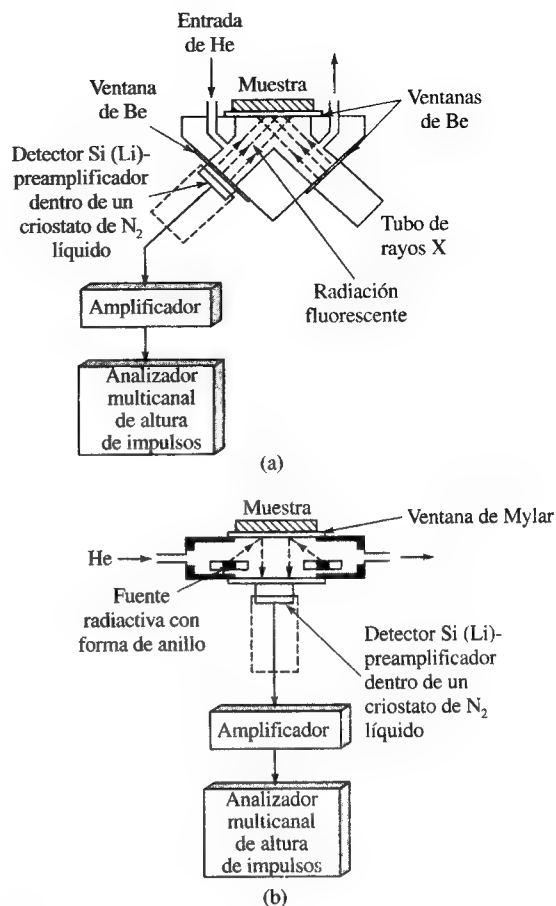


Figura 12-14. Espectrómetro de fluorescencia de rayos X dispersivo de energías. Excitación por rayos X procedentes de (a) un tubo de rayos X y (b) una sustancia radiactiva.

petróleo. Tanto los instrumentos de un solo canal como los multicanal están equipados para manipular muestras en forma de metales, sólidos pulverizados, películas evaporadas, líquidos puros o disoluciones. Cuando es necesario, los materiales se colocan en una cubeta con una ventana de Mylar o de celofán.

Instrumentos dispersivos de energías⁸

Tal como se muestra en la Figura 12-14, un espectrómetro dispersivo de energías consta de una fuente policromática, que puede ser un tubo de rayos X o un material radiactivo, un soporte para la muestra, un detector semiconductor y diversos compo-

⁸ Véase R. Woldseth, *All You Want To Know About XES*. Foster City, CA: Kevex Corporation, 1973.

nentes electrónicos necesarios para discriminar la energía.

Una ventaja obvia de los sistemas dispersivos de energías es la sencillez y la ausencia de partes móviles en los componentes de excitación y detección del espectrómetro. Además, la ausencia de colimadores y del cristal difractor, así como la proximidad entre el detector y la muestra, da lugar a un incremento de la energía que llega al detector de 100 veces o superior. Estos hechos permiten el uso de fuentes débiles tales como los materiales radiactivos o tubos de rayos X de baja potencia, que son más baratos y es menos probable que la radiación cause daños en la muestra. Generalmente el precio de los instrumentos dispersivos de energías es cuatro o cinco veces menor que el de un sistema dispersivo de longitudes de onda.

En un instrumento multicanal dispersivo de energías, todas las líneas de rayos X emitidas se miden simultáneamente. Además la ventaja Fellgett (véase página 195) permite obtener un aumento de la sensibilidad y una mejor relación señal-ruido.

El principal inconveniente de los sistemas dispersivos de energías, cuando se comparan con los espectrómetros de cristal, es su menor resolución a

longitudes de onda superiores a aproximadamente 1 Å. Por otra parte, a longitudes de onda más cortas, los sistemas dispersivos de energías presentan una resolución superior.

Instrumentos no dispersivos

La Figura 12-15 muestra un corte de un instrumento no dispersivo, comercial, básico, que se utiliza en la determinación de rutina de azufre y plomo en gasolinas. Para la determinación de azufre, la muestra se irradia con los rayos X producidos por una fuente radiactiva de hierro-55; esta radiación genera, a su vez, una línea de fluorescencia del azufre a 5,4 Å. La radiación del analito pasa después a través de un par de filtros adyacentes y entra en dos contadores proporcionales gemelos. La discontinuidad de absorción de uno de los filtros cae justo por debajo de 5,4 Å; la del otro justo por encima. La diferencia entre las dos señales es proporcional al contenido en azufre de la muestra. La determinación de azufre con este instrumento requiere un tiempo de recuento de alrededor de 1 minuto. Las desviaciones estándar relativas obtenidas para los replicados son del orden del 1 por 100.

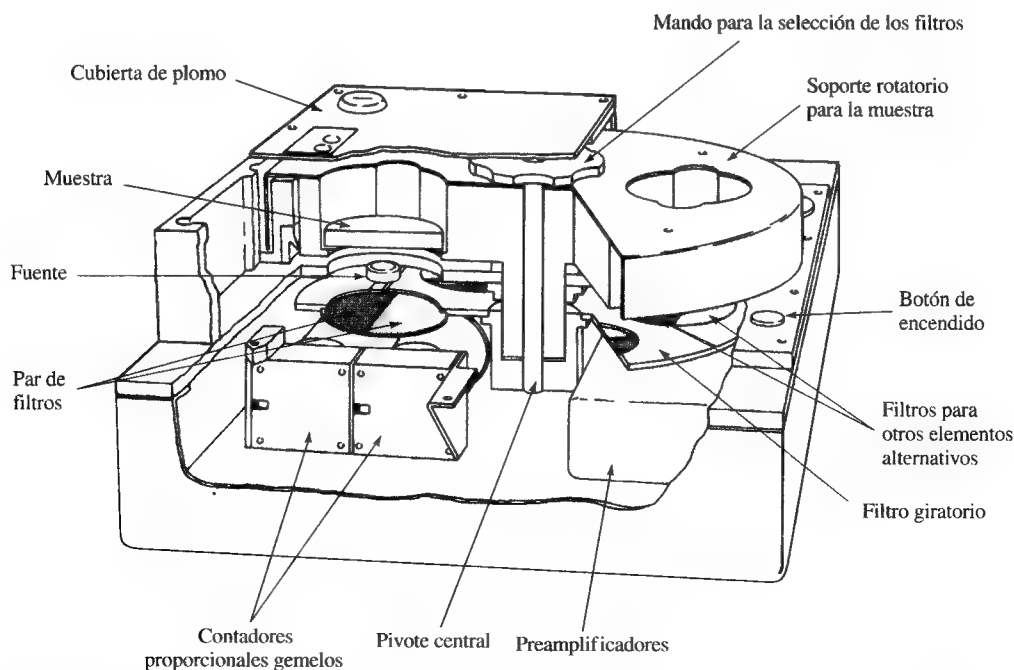


Figura 12-15. Corte de un instrumento comercial de fluorescencia de rayos X no dispersivo. (Reproducido con permiso de B. J. Price y K. M. Field, Amer. Lab., 1974, 6(9), 62. Copyright 1974 por International Scientific Communications, Inc.)

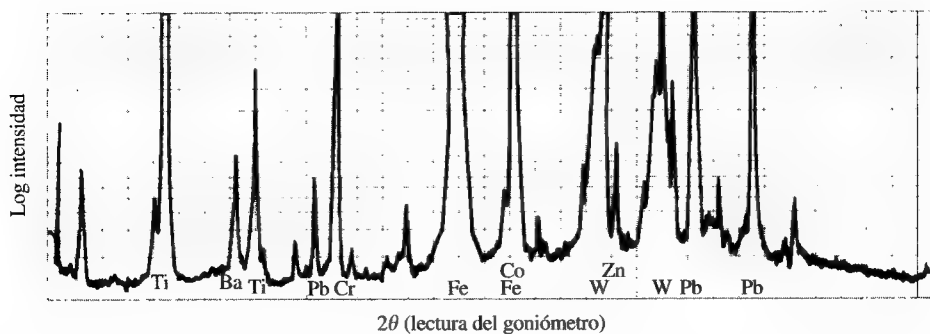


Figura 12-16. Espectro de fluorescencia de rayos X de un billete de banco auténtico, registrado con un espectrómetro dispersivo de longitudes de onda. (Tomado de H. A. Liebhafsky, H. G. Pfeiffer, E. H. Winslow y P. D. Zeman, *X-Ray Absorption and Emission in Analytical Chemistry*, pág. 163. New York: Wiley, 1960. Reproducido con permiso de John Wiley & Sons, Inc.)

12C-2. Análisis cualitativo y semicuantitativo

La Figura 12-16 ilustra una interesante aplicación cualitativa del método de fluorescencia de rayos X. En este caso, las muestras sin pretratamiento, que fueron excitadas con la radiación procedente de un tubo de rayos X, se recuperaron más tarde sin ninguna alteración. Hay que señalar que en los instrumentos dispersivos de longitudes de onda, en la abscisa se suele representar el ángulo 2θ , el cual se puede convertir fácilmente en longitud de onda si se conoce la constante de red del cristal del monocromador (Ecuación 12-6). La identificación de los picos se consigue mediante la consulta de tablas de líneas de emisión de los elementos.

La Figura 12-17 es un espectro obtenido con un instrumento dispersivo de energías. Con dichos equipos, la abscisa está generalmente calibrada en número de canal o energía en keV. Cada punto representa el número de cuentas acumuladas en uno de los varios cientos de canales.

La información cualitativa, tal como se muestra en la Figuras 12-16 y 12-17, se puede transformar en datos semicuantitativos midiendo cuidadosamente las alturas de los picos. Para obtener una estimación aproximada de la concentración, se debe utilizar la siguiente relación:

$$P_x = P_s W_x \quad (12-7)$$

donde P_x es la intensidad relativa de la línea medida en términos de número de cuentas en un período fijado y W_x es la fracción en peso del elemento deseado en la muestra. El término P_s es la intensidad

relativa de la línea que se observaría bajo idénticas condiciones de recuento si W_x fuese la unidad. El valor P_s se determina con una muestra del elemento puro o con una muestra patrón de composición conocida.

La utilización de la Ecuación 12-7, tal como se señala en el párrafo anterior, supone que la emisión de la especie de interés no se ve afectada por la presencia de otros elementos en la muestra. Se verá que esta suposición no se puede justificar; como consecuencia, la concentración estimada puede tener un error de un factor igual o superior a dos. Por otro lado, esta incertidumbre es significativamente menor que la asociada a un análisis semicuantitativo por emisión óptica donde no son inusuales los errores de un orden de magnitud.

12C-3. Análisis cuantitativo⁹

Los instrumentos de fluorescencia de rayos X modernos son capaces de realizar análisis cuantitativos de materiales complejos con una precisión que iguala o supera la de los métodos químicos clásicos por vía húmeda o la de otros métodos instrumentales. Sin embargo, para que la exactitud de los análisis alcance este nivel es necesario disponer de patrones de calibrado que se parezcan lo más posible a las muestras, tanto en su composición química como física, o bien de métodos adecuados para considerar los efectos de la matriz.

⁹ Véase R. Jenkins, R. W. Gould y D. Gedcke, *Quantitative X-Ray Spectrometry*, 2.^a ed. New York: Marcel Dekker, 1995.

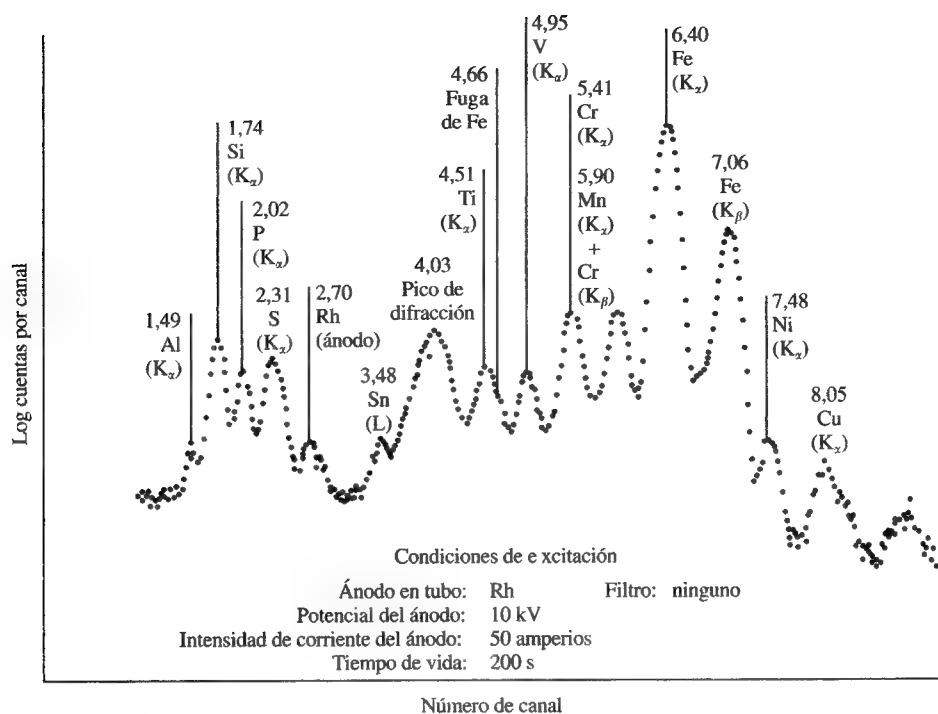


Figura 12-17. Espectro de una muestra de hierro, obtenido con un instrumento dispersivo de energías con un tubo de rayos X con ánodo de Rh como fuente. Los números situados sobre los picos indican las energías en keV. (Reproducido con permiso de J. A. Cooper, Amer. Lab., 1976, 8(11), 44. Copyright 1976 por International Scientific Communications, Inc.)

Efectos de la matriz

Es importante puntualizar que los rayos X producidos en un proceso de fluorescencia se generan no sólo en los átomos de la superficie de una muestra sino también en aquellos que se encuentran debajo de la superficie. Así, una parte del haz incidente y del haz fluorescente resultante atraviesan un espesor de la muestra significativo en el que puede tener lugar absorción y dispersión. El grado de atenuación de ambos haces depende del coeficiente de absorción másico del medio, el cual a su vez se determina a partir de los coeficientes de *todos* los elementos de la muestra. Por tanto, aunque la intensidad neta de una línea que llega al detector en una medida de fluorescencia de rayos X depende de la concentración del elemento que produce la línea, también está afectada por la concentración y por los coeficientes de absorción másicos de los elementos de la matriz.

Los efectos de absorción por la matriz pueden hacer que los resultados calculados a partir de la Ecuación 12-7 sean más altos o más bajos. Si, por ejemplo, la matriz contiene una cantidad significa-

tiva de un elemento que absorbe el haz incidente o el emitido más fuertemente que el elemento a determinar, entonces W_x será bajo, ya que P_s se calcula con un patrón cuya absorción es más pequeña. Por otro lado, si los elementos de la matriz de la muestra absorben menos que los del patrón, resultarán valores más altos de W_x .

Un segundo efecto de la matriz, llamado *efecto de intensificación*, puede dar lugar, también, a resultados mayores de lo esperado. Este comportamiento se observa cuando la muestra contiene un elemento cuyo espectro de emisión característico se excita mediante el haz incidente y este espectro a su vez produce una excitación secundaria de la línea analítica.

Se han desarrollado varias técnicas para compensar los efectos de absorción y de intensificación en los análisis por fluorescencia de rayos X.

Calibrado frente a patrones

En este caso, la relación entre la intensidad de la línea analítica y la concentración se determina empíricamente con un grupo de patrones que se apro-

ximen lo más posible en su composición global a la de la muestra. Se supone que los efectos de absorción y de intensificación son idénticos para la muestra y los patrones y los datos empíricos obtenidos se utilizan para convertir los datos de emisión en concentraciones. Está claro que el grado de compensación que se alcanza por esta vía depende de la similitud entre las muestras y los patrones.

Utilización de patrones internos

En este procedimiento se introduce un elemento a una concentración conocida y fija, tanto en las muestras como en los patrones de calibrado; el elemento añadido no debe estar presente en la muestra original. Como parámetro analítico se utiliza la relación de intensidades entre el elemento a determinar y el patrón interno. En este caso, se supone que los efectos de absorción y de intensificación son los mismos para las dos líneas y que el uso de la relación de intensidades compensa estos efectos.

Dilución de la muestra y de los patrones

En este caso, tanto la muestra como los patrones se diluyen con una sustancia que absorbe solo débilmente los rayos X, esto es, una sustancia que contiene elementos con números atómicos bajos. Entre los ejemplos de estos diluyentes se incluyen el agua; disolventes orgánicos que sólo contienen carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno; almidón; carbonato de litio; alúmina; y ácido bórico o vidrio de borato. Cuando se utiliza un exceso de diluyente, los efectos de la matriz llegan a ser prácticamente constantes para las muestras y los patrones diluidos y se alcanza una compensación adecuada. Este procedimiento ha demostrado ser particularmente útil para el análisis de minerales, donde tanto las muestras como los patrones se disuelven en bórax fundido; después de enfriar, la masa fundida se excita de la manera usual.

Algunas aplicaciones cuantitativas de la fluorescencia de rayos X

La espectrometría de fluorescencia de rayos X es, con la adecuada corrección de los efectos de la matriz, quizás, la herramienta más poderosa al alcance del químico para la determinación cuantitativa rápida de todos los elementos, excepto los más ligeros, en muestras complejas. Por ejemplo, Baird y

Henke¹⁰ han demostrado que se pueden determinar nueve elementos en muestras de rocas graníticas en un tiempo de 12 minutos, incluyendo la preparación de la muestra. La precisión del método es mejor que la de los análisis químicos por vía húmeda, 0,08 por 100. Es importante resaltar que uno de los elementos citados es el oxígeno, que normalmente sólo se puede determinar por diferencia. También se ha publicado una excelente revisión general de los análisis de fluorescencia de rayos X en materiales geológicos¹¹.

Los métodos de rayos X encuentran también una gran aplicación en el control de calidad en la fabricación de metales y aleaciones. En este caso, la velocidad del análisis permite correcciones en la composición de la aleación durante su producción.

Los métodos de fluorescencia de rayos X se han adaptado fácilmente a muestras líquidas. Así, tal y como se ha mencionado, se han diseñado métodos para la determinación cuantitativa directa de plomo y bromo en muestras de gasolina para aviación. De manera similar, se ha determinado calcio, bario y cinc en aceites lubricantes, por excitación de la fluorescencia en las muestras de hidrocarburos líquidos. El método es también adecuado para la determinación directa de pigmentos en muestras de pinturas.

Los métodos de fluorescencia de rayos X se han aplicado ampliamente en el análisis de contaminantes atmosféricos. Por ejemplo, un procedimiento para la detección y determinación de contaminantes consiste en hacer pasar una muestra de aire a través de un sistema que consta de un filtro microporoso para partículas y tres discos de papel de filtro impregnados con ortotoluidina, nitrato de plata e hidróxido de sodio, respectivamente. Los reactivos retienen cloro, sulfuros y dióxido de azufre en este orden. Después de haber pasado el aire a través de los filtros, éstos constituyen las muestras que se analizan por fluorescencia de rayos X.

Otra prueba de la versatilidad de los métodos de fluorescencia de rayos X es su uso para la determinación cuantitativa de elementos más pesados que el sodio en rocas y suelos encontrados cerca del visor de aterrizaje de la misión Marte Pathfinder¹². El microrrobot Sojourner de Pathfinder esta-

¹⁰ A. K. Baird y B. L. Henke, *Anal. Chem.*, **1965**, 37, 727.

¹¹ J. E. Anzelma y J. R. Lindsay, *J. Chem. Educ.*, **1987**, 64, A181 y A200.

¹² Burka, Lauren P. «Welcome to the Mars Pathfinder Mission!» 1997. <http://mpfwww.jpl.nasa.gov/> (16 de julio de 1997).

ba equipado con la cabeza de un sensor capaz de colocarse plana junto al material a analizar. La cabeza contenía curio 244, y emitía partículas α que bombardeaban la superficie de la muestra, como en la Figura 12-14b. La fluorescencia de rayos X emitida por la muestra golpeaba el detector de un espectrómetro dispersivo de energías en el que se registraba la potencia radiante como una función de la energía, transmitida de Marte a la Tierra, y finalmente analizada en la Tierra. Los elementos más ligeros se determinaron mediante retrodispersión o emisión de protón. Con estos tres métodos de detección, todos los elementos del sistema periódico, excepto el hidrógeno, podrían determinarse a niveles de concentración de pocas décimas de tanto por ciento.

Ventajas e inconvenientes de los métodos de fluorescencia de rayos X

La fluorescencia de rayos X ofrece extraordinarias ventajas. Los espectros son relativamente sencillos, por lo que las interferencias de líneas espectrales son poco probables. Generalmente, el método de rayos X es no destructivo y, por tanto, puede utilizarse para el análisis de pinturas, muestras arqueológicas, joyas, monedas y otros objetos de valor sin dañar la muestra. Además, los análisis se pueden llevar a cabo en muestras que van desde partículas apenas visibles hasta objetos enormes. Otras ventajas incluyen la velocidad y la comodidad del procedimiento, que permite realizar un análisis multielemental en pocos minutos. Finalmente, la exactitud y la precisión de los métodos de fluorescencia de rayos X, a menudo, iguala o supera la de otros métodos¹³.

En general, los métodos de fluorescencia de rayos X no son tan sensibles como los distintos métodos ópticos que se han tratado anteriormente en este texto. En los casos más favorables, se pueden medir concentraciones de pocas partes por millón. Sin embargo, por lo general, el intervalo de concentración del método oscila entre aproximadamente el 0,01 y el 100 por 100. Los métodos de fluorescencia de rayos X no son adecuados para los elementos más ligeros; las dificultades en la detección y en la medida aumentan progresivamente a medida que los números atómicos se hacen menores de 23 (vanadio), debido, en parte a un proceso

competitivo, llamado *emisión Auger*, que reduce la intensidad de fluorescencia (véase Fig. 21-7). Los instrumentos comerciales actuales se limitan a los números atómicos de 5 (boro) o de 6 (carbono). Otro inconveniente del procedimiento de emisión de rayos X es el elevado coste de los instrumentos, los cuales oscilan entre unos 5.000 dólares para un sistema dispersivo de energías con una fuente radiactiva y 500.000 dólares para un sistema automático y computarizado dispersivo de longitudes de onda.

12D. MÉTODOS DE ABSORCIÓN DE RAYOS X

A diferencia de la espectroscopia óptica, donde los métodos de absorción tienen una importancia primordial, las aplicaciones de la absorción de rayos X están limitadas si se las compara con los procedimientos de emisión y de fluorescencia de rayos X. Aun cuando las medidas de absorción se puedan realizar relativamente libres de los efectos de la matriz, las técnicas requeridas son algo más engorrosas y requieren más tiempo que los métodos de fluorescencia. Por ello, la mayoría de las aplicaciones se restringen a muestras en las que los efectos de la matriz son mínimos.

Los métodos de absorción son parecidos a los procedimientos ópticos de absorción en los que la atenuación de una banda o una línea de radiación X sirve como parámetro analítico. La selección de la longitud de onda se lleva a cabo con un monocromador como el que se muestra en la Figura 12-9 o por una técnica de filtro similar a la que se ilustra en la Figura 12-8. Como alternativa, se utiliza la radiación monocromática de una fuente radiactiva.

Debido a la anchura de los picos de absorción de rayos X, en general, los métodos de absorción directa son útiles sólo cuando se determina un único elemento con un número atómico alto en una matriz que sólo consta de elementos ligeros. Entre los ejemplos de este tipo de aplicaciones se encuentran la determinación del plomo en gasolinas o la determinación de azufre y halógenos en hidrocarburos.

12E. MÉTODOS DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X

Desde su descubrimiento en 1912 por von Laue, la difracción de rayos X ha proporcionado una gran

¹³ Para una comparación entre la fluorescencia de rayos X y el ICP en el análisis de óxidos de hierro, véase R. A. Peterson y D. M. Wheeler, *Amer. Lab.*, **1981**, 13(10), 138.

cantidad de importante información a la ciencia y a la industria. Por ejemplo, la mayor parte de los conocimientos sobre la ordenación y el espaciado de los átomos en los materiales cristalinos se ha deducido directamente de estudios de difracción. Además, tales estudios han aportado un entendimiento más claro de las propiedades físicas de los metales, de los materiales poliméricos y de otros sólidos. La difracción de rayos X es en la actualidad de primordial importancia en la elucidación de estructuras de productos naturales complejos tales como esteroides, vitaminas y antibióticos. Tales aplicaciones están fuera del alcance de este texto.

La difracción de rayos X también proporciona un medio adecuado y práctico para la identificación cualitativa de compuestos cristalinos. El método de difracción de rayos X de polvo cristalino es el único método analítico capaz de suministrar información cualitativa y cuantitativa sobre los *compuestos* presentes en una muestra sólida. Por ejemplo, el método de polvo cristalino permite determinar el porcentaje de KBr y NaCl en una mezcla sólida de estos dos compuestos. Otros métodos analíticos proporcionan sólo los porcentajes de K^+ , Na^+ , Br^- y Cl^- en la muestra¹⁴.

Los métodos de rayos X de polvo cristalino se basan en el hecho de que cada sustancia cristalina presenta un diagrama de difracción único. Así, si se encuentra una igualdad exacta entre el diagrama de una muestra desconocida y el de una muestra fiable, se puede dar por sentada su identidad química.

12E-1. Identificación de compuestos cristalinos

Preparación de la muestra

Para los estudios analíticos de difracción, la muestra cristalina se muele hasta obtener un polvo fino homogéneo. De esta forma, los numerosos pequeños cristales están orientados en todas las direcciones posibles; y, por tanto, cuando un haz de rayos X atraviesa el material, se puede esperar que un número significativo de partículas estén orientadas de tal manera que cumplan la condición de Bragg de la reflexión para todos los espaciados interplanares posibles.

Las muestras se colocan en el haz dentro de unos tubos capilares de paredes de vidrio finas o de celofán. Alternativamente, se puede mezclar la muestra con un cemento no cristalino adecuado y pulverizarla dándole una forma adecuada.

Difractómetros automáticos

Los diagramas de difracción se obtienen, normalmente, con instrumentos automatizados de diseño similar al que se muestra en la Figura 12-9. En este caso, la fuente es un tubo de rayos X con filtros adecuados. Sin embargo, la muestra pulverizada reemplaza al monocristal en su soporte. En algunos casos, el soporte de la muestra puede girar con el objeto de aumentar la aleatoriedad en la orientación de los cristales. El diagrama de difracción se obtiene entonces, mediante un barrido automático, de la misma manera que se obtiene un espectro de emisión o de absorción. Los instrumentos de este tipo suelen ofrecer la ventaja de presentar una elevada precisión en las medidas de intensidad, reducción automatizada de los datos y generación del informe.

Registro fotográfico

El método clásico de registro de los diagramas de difracción de polvo cristalino, que todavía se usa, en particular cuando la cantidad de muestra es pequeña, es el fotográfico. El instrumento más común para esta finalidad es la cámara de polvo cristalino de *Debye-Scherrer*, que se muestra esquemáticamente en la Figura 12-18a. En este caso, el haz procedente de un tubo de rayos X se filtra para producir un haz casi monocromático (a menudo la línea K_α del cobre o del molibdeno), el cual es colimado al pasar a través de un tubo estrecho. La radiación no difractada T sale de la cámara por un tubo estrecho de salida. La propia cámara es cilíndrica y está equipada para colocar una tira de película en la parte interior de la pared. El diámetro interior del cilindro es, normalmente, de 5,73 o 11,46 cm, de manera que cada milímetro lineal de película equivale respectivamente a 1,0 o 0,5 grados de θ . La muestra se coloca en el centro del haz mediante un soporte ajustable.

La Figura 12-18b muestra el aspecto de una película expuesta y revelada; cada grupo de líneas (D_1 , D_2 , etc.) representan la difracción de un grupo de cristales planos. El ángulo de Bragg θ para cada línea se evalúa fácilmente a partir de la geometría de la cámara.

¹⁴ Para un tratamiento más detallado acerca del método de difracción de rayos X de polvo cristalino, véase R. Jenkins y R. Snyder, *Introduction to X-Ray Powder Diffractometry*. New York: Wiley, 1996.

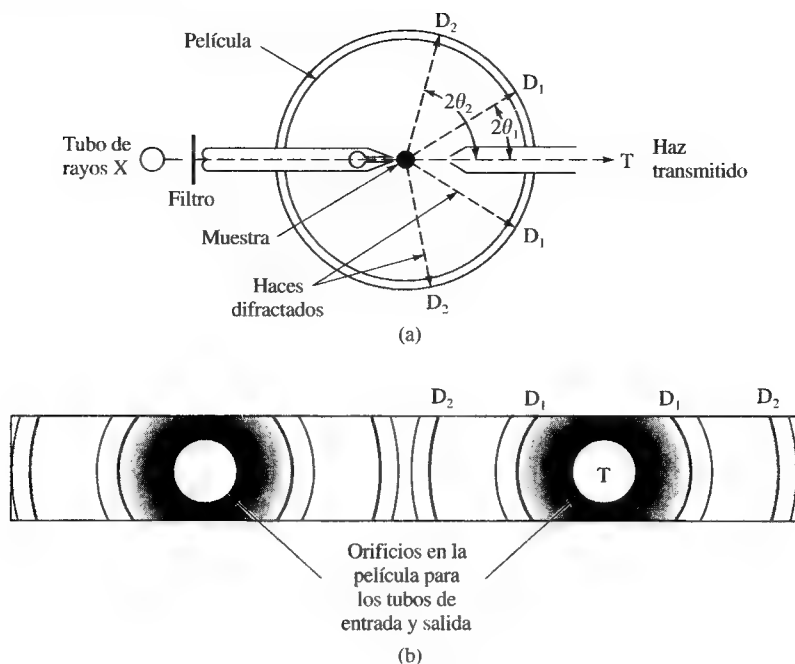


Figura 12-18. Esquema de (a) una cámara de polvo cristalino Debye-Scherrer; (b) tira de película después de revelar. D₂, D₁ y T indican las posiciones de la película en la cámara.

12E-2. Interpretación de los diagramas de difracción

La identificación de especies a partir de su diagrama de difracción de polvo cristalino se basa en la posición de las líneas (en términos de θ o 2θ) y en sus intensidades relativas. El ángulo de difracción 2θ se determina por el espaciado entre un grupo particular de planos; con la ayuda de la ecuación de Bragg, esta distancia d se calcula a partir de una longitud de onda de la fuente conocida y del ángulo medido. Las intensidades de la línea dependen del número y del tipo de centros atómicos de reflexión que existen en cada grupo de planos.

La identificación de los cristales es empírica. El Centro Internacional para Datos de Difracción (International Centre for Diffraction Data, Swarthmore, PA) dispone de un fichero de difracción de polvo cristalino. En 1988, este fichero contenía diagramas de difracción de polvo cristalino de alrededor de 50.000 compuestos. Debido a que el fichero es tan grande que la búsqueda se hacía difícil y lenta, los ficheros de datos de difracción se han dividido en subficheros que contienen listados para compuestos inorgánicos, orgánicos, mi-

nerales, metales, aleaciones, muestras forenses y otros. Los datos que contienen estos ficheros son los espaciados d y las intensidades de línea relativas. Las entradas están ordenadas por orden del espaciado d de la línea más intensa; de este fichero se separan las entradas en las que el espaciado d difiera en pocos cientos de angstrom del espaciado d de la línea más intensa del analito. La eliminación posterior de los posibles compuestos se lleva a cabo considerando el espaciado de la segunda línea más intensa, después la tercera y así sucesivamente. Normalmente, tres o cuatro espaciados sirven para identificar el compuesto sin ambigüedad. Actualmente se dispone de programas de búsqueda por ordenador que evitan el tedio del proceso de búsqueda.

Si la muestra contiene dos o más compuestos cristalinos, la identificación se hace más compleja. En este caso, se utilizan varias combinaciones de las líneas más intensas hasta encontrar una coincidencia.

También es posible hacer un análisis cuantitativo de mezclas cristalinas midiendo las intensidades de las líneas de difracción y comparándolas con patrones.

12F. MICROSONDA DE ELECTRONES

La *microsonda de electrones* constituye un método importante para la determinación de la composición elemental de las superficies. En esta técnica, mediante un haz de electrones muy estrecho, se es-

timula la emisión de rayos X, procedente de los elementos de la superficie de la muestra. La emisión de rayos X resultante se detecta y analiza con un espectrómetro dispersivo de longitudes de onda o de energías. Este método se trata con detalle en el Apartado 21B-7.

12G. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 12-1. ¿Cuál es la longitud de onda mínima del espectro continuo producido por un tubo de rayos X que tiene un blanco de plata y funciona a 80 kV?
- 12-2. ¿Cuál es el voltaje mínimo necesario para excitar las series K_β y L_β de líneas para (a) U, (b) K, (c) Rb, (d) W?
- 12-3. Las líneas $K_{\alpha 1}$ para el Ca, Zn, Zr y Sn aparecen a 3,36; 1,44; 0,79 y 0,49 Å, respectivamente. Calcular una longitud de onda aproximada para las líneas K_α de (a) V, (b) Ni, (c) Se, (d) Br, (e) Cd, (f) Sb.
- 12-4. Las líneas L_α para el Ca, Zn, Zr y Sn se encuentran a 36,3; 11,9; 6,07 y 3,60 Å, respectivamente. Predecir las longitudes de onda para las líneas L_α de los elementos enumerados en el Problema 12-3.
- 12-5. El coeficiente de absorción másico para el Ni, medido con la línea K_α del Cu, es 49,2 cm²/g. Calcular el espesor de una lámina de níquel para la que se encontró que transmitía el 36,1 por 100 de la potencia incidente de un haz de radiación K_α de Cu. Considerar que la densidad del Ni es 8,9 g/cm³.
- 12-6. Para la radiación K_α del Mo (0,711 Å), los coeficientes de absorción másicos para el K, I, H y O son 16,7; 39,2; 0,0 y 1,50 cm²/g, respectivamente.
 - (a) Calcular el coeficiente de absorción másico de una disolución preparada mezclando 8,00 g de KI con 92 g de agua.
 - (b) La densidad de la disolución descrita en (a) es 1,05 g/cm³. ¿Qué fracción de la radiación K_α del Mo procedente de la fuente será transmitida por una capa de 0,50 cm de la disolución?
- 12-7. El aluminio se utiliza como ventana de una cubeta para medidas de absorción de rayos X con la línea K_α de la Ag. El coeficiente de absorción másico del aluminio a esta longitud de onda es 2,74; su densidad es 2,70 g/cm³. ¿Cuál es el espesor máximo de la lámina de aluminio que se podría utilizar en la fabricación de ventanas de forma que no se absorba en ellas más del 2,0 por 100 de la radiación?
- 12-8. Una disolución de I₂ en etanol presentó una densidad de 0,794 g/cm³. Se encontró que una capa de 1,50 cm transmitía el 27,3 por 100 de la radiación K_α del Mo procedente de la fuente. Los coeficientes de absorción másicos para el I, C, H y O son 39,2; 0,70; 0,00 y 1,50, respectivamente.
 - (a) Calcular el porcentaje de I₂ presente, despreciando la absorción debida al alcohol.
 - (b) Corregir los resultados del apartado (a) cuando se considera la presencia de alcohol.
- 12-9. Calcular la posición del goniómetro, en términos de 2θ , requerida para observar las líneas $K_{\alpha 1}$ del Fe (1,76 Å), Se (0,992 Å) y Ag (0,497 Å) cuando el cristal de difracción es (a) topacio; (b) LiF; (c) NaCl.

- 12-10.** Calcular la posición del goniómetro, en términos de 2θ , requerida para observar las líneas $L_{\beta 1}$ del Br a 8,126 Å cuando el cristal de difracción es
 (a) *d*-tartrato de etilenodiamina.
 (b) Dihidrógeno fosfato de amonio.
- 12-11.** Calcular el voltaje mínimo del tubo necesario para excitar las siguientes líneas. Los números entre paréntesis son las longitudes de onda en Å para las correspondientes discontinuidades de absorción.
 (a) Líneas K del Ca (3,064).
 (b) Líneas L_x del As (9,370).
 (c) Líneas L_{β} del U (0,592).
 (d) Líneas K del Mg (0,496).
- 12-12.** Se determinó manganeso en muestras de interés geológico mediante fluorescencia de rayos X utilizando bario como patrón interno. La intensidad de fluorescencia de las líneas aisladas para cada elemento dio los siguientes datos:

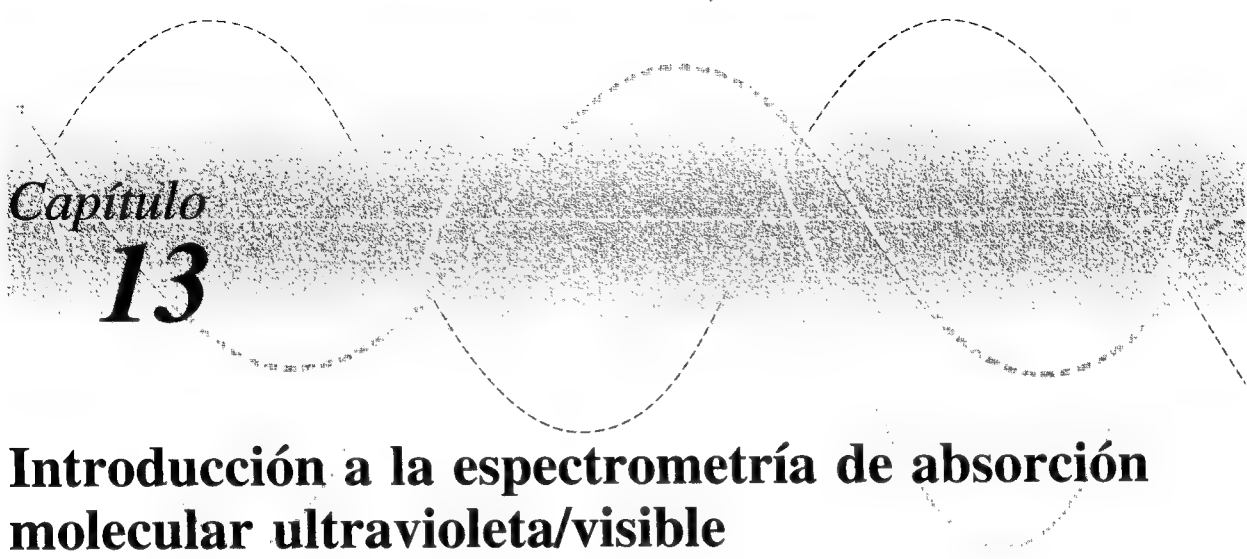
% peso Mn	Cuentas por segundo	
	Ba	Mn
0,00	156	80
0,10	160	106
0,20	159	129
0,30	160	154
0,40	151	167

¿Cuál es el porcentaje en peso de manganeso en una muestra que tiene una relación de cuentas Mn/Ba de 0,886?

- 12-13.** Un importante experimento de la NASA realizado a bordo Mars Pathfinder Sojourner fue el APXS o Espectrómetro de Rayos X de Protón Alfa. El mundo quedó cautivado por el Sojourner y la World Wide Web en <http://mpfwww.jpl.nasa.gov/> y sus portales fueron prácticamente arrollados por muchos millones de información por hora. Para una información más detallada en cuanto a la instrumentación a bordo del Sojourner, véase el artículo en http://mars.sgi.com/mpf/sci_desc.html#APXS que contiene una descripción general del conjunto instrumental y enlaza con información más detallada que incluye el artículo de T. Economou en

Análisis de muestras de Marte realizados con el espectrómetro APX, primeros resultados preliminares

Elemento	Suelo A-2, % en peso	Suelo A-4, % en peso	Suelo A-5, % en peso	Roca A-3, («Barnacle Bill»), % en peso	Roca A-7, («Yogi»), % en peso
Fe	15,2	11,2	13,6	9,9	10,7
K	0,5	0,6	0,6	1,2	0,9
Mn	0,4	0,4	0,5	0,7	0,4
Na	3,2	3,8	2,6	3,1	1,9
O	42,5	43,9	43,2	45,0	44,6
Si	21,6	20,2	20,5	25,7	23,8



Capítulo 13

Introducción a la espectrometría de absorción molecular ultravioleta/visible

En este capítulo se introducen conceptos que se aplican principalmente a la espectroscopia de absorción de la radiación electromagnética de la región de longitudes de onda comprendida entre 160 y 780 nm. Parte de estos conceptos, sin embargo, también son aplicables a la espectroscopia infrarroja. Las medidas de absorción de la radiación ultravioleta y visible encuentran una enorme aplicación en la determinación cuantitativa de una gran variedad de especies tanto inorgánicas como orgánicas¹.

La espectroscopia de absorción molecular se basa en la medida de la transmitancia T o de la absorbancia A de disoluciones que se encuentran

en cubetas transparentes que tienen un camino óptico de b cm. Normalmente, la concentración c de un analito absorbente está relacionada linealmente con la absorbancia como representa la ecuación

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc \quad (13-1)$$

Todas las variables de esta ecuación se definen en la Tabla 13-1. Esta ecuación es una representación matemática de la ley de Beer.

13A. MEDIDA DE LA TRANSMITANCIA Y DE LA ABSORBANCIA

Normalmente, la transmitancia y la absorbancia, como se definen en la Tabla 13-1, no pueden medirse en el laboratorio ya que la disolución del analito debe mantenerse en algún tipo de recipiente transparente, o cubeta. Como muestra la Figura 13-1, en las dos interfases aire/pared de la cubeta, así como en las dos interfases pared/disolución tienen lugar reflexiones. La atenuación del haz resultante es primordial, como se demuestra en el Ejemplo 6-2 (página 133), donde se muestra que

¹ Algunas referencias útiles sobre métodos de absorción incluyen: E. J. Meehan, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.^a ed., P. J. Elving, E. J. Meehan, e I. M. Kolthoff, Eds., Parte 1, Vol. 7, Capítulos 1-3. New York: Wiley, 1981; R. P. Bauman, *Absorption Spectroscopy*. New York: Wiley, 1962; F. Grum, en *Physical Methods of Chemistry*, A. Weissberger y B. W. Rossiter, Eds., Vol. I, Parte III B, Capítulo 3. New York: Wiley-Interscience, 1972; H. H. Jaffé y M. Orchin, *Theory and Applications of Ultraviolet Spectroscopy*. New York: Wiley, 1962; G. F. Lothian, *Absorption Spectrophotometry*, 3.^a ed. London: Adam Hilger Ltd., 1969; J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, Capítulo 13. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1988.

TABLA 13-1. Términos y símbolos importantes utilizados en las medidas de la absorción

Término y símbolo*	Definición	Nombre y símbolo alternativo
Potencia radiante P , P_0	Energía (en ergios) de la radiación que incide en el detector, por cm^2 y por segundo	Intensidad de la radiación I , I_0
Absorbancia A	$\log \frac{P_0}{P}$	Densidad óptica D ; extinción E
Transmitancia T	$\frac{P}{P_0}$	Transmisión T
Camino óptico de la radiación† b	—	l , d
Absortividad‡ a	$\frac{A}{bc}$	Coefficiente de extinción k
Absortividad molar‡ ϵ	$\frac{A}{bc}$	Coefficiente de extinción molar

* Terminología recomendada por la American Chemical Society (*Anal. Chem.*, **1990**, 62, 91).

† c puede expresarse en g/L o en otras unidades de concentración; b puede expresarse en cm o en otras unidades de longitud.

‡ c se expresa en mol/L ; b se expresa en cm .

aproximadamente el 8,5 por 100 de un haz de luz amarilla se pierde por reflexión en su paso a través de una cubeta de vidrio rellena de agua. Además, la atenuación del haz puede ocurrir como consecuencia de la dispersión causada por moléculas grandes y, a veces, de la absorción por las paredes del recipiente. Para compensar todos estos efectos, la potencia del haz transmitido por la disolución del analito se compara, generalmente, con la potencia

del haz transmitido por una cubeta idéntica que sólo contiene disolvente. Con las siguientes ecuaciones se obtienen la transmitancia y absorbancia experimentales que se aproximan estrechamente a la transmitancia y absorbancia verdaderas

$$T = \frac{P_{\text{disolución}}}{P_{\text{disolvente}}} = \frac{P}{P_0} \quad (13-2)$$

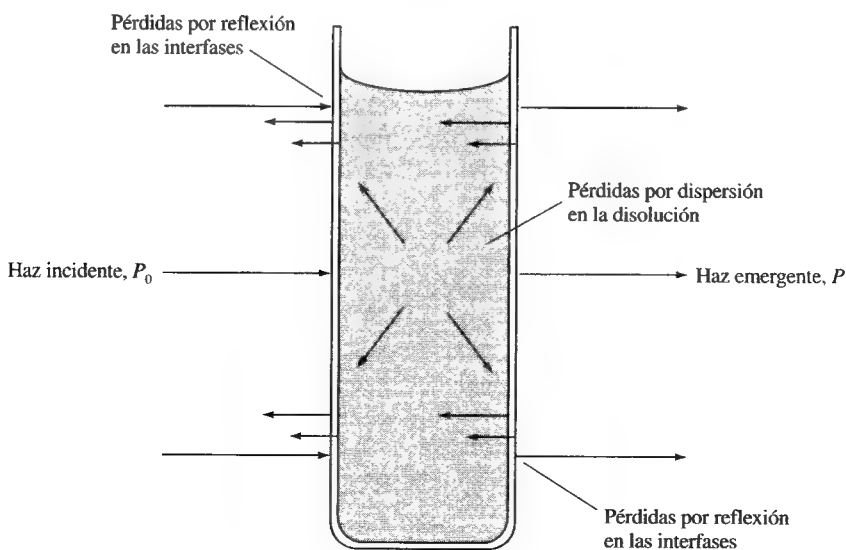


Figura 13-1. Pérdidas por reflexión y dispersión.

$$A = \log \frac{P_{\text{disolvente}}}{P_{\text{disolución}}} \approx \log \frac{P_0}{P} \quad (13-3)$$

Los términos P_0 y P , como se usarán en este libro de aquí en adelante, se refieren a la potencia de la radiación después de pasar a través de cubetas que contienen el disolvente y el analito, respectivamente.

13B. LEY DE BEER

La Ecuación 13-1 representa la *ley de Beer*. Esta relación puede explicarse como sigue². Consideremos el bloque de material absorbente (sólido, líquido o gas) que se muestra en la Figura 13-2. Un haz de radiación monocromático paralelo de potencia P_0 choca contra el bloque de forma perpendicular a la superficie; después de pasar a través de una longitud b de material, que contiene n átomos, iones o moléculas absorbentes, su potencia disminuye hasta un valor P como resultado de la absorción. Consideremos ahora una sección transversal del bloque de área S y espesor infinitesimal dx . Esta sección contiene dn partículas absorbentes; asociada a cada partícula, podemos imaginar una superficie en la cual tendrá lugar la captura del fotón. Es decir, si un fotón, por casualidad, alcanza una de estas áreas, inmediatamente tendrá lugar la absorción. La proyección del área total de estas superficies de captura dentro de la sección se designa como dS ; la relación entre el área de captura y el área total, será entonces dS/S . En un promedio estadístico, esta relación representa la probabilidad de captura de fotones en el interior de la sección.

La potencia del haz que entra en la sección, P_x , es proporcional al número de fotones por centímetro cuadrado y dP_x representa la cantidad absorbida en la sección; la fracción absorbida será, entonces $-dP_x/P_x$, y esta relación también es igual a la probabilidad media de captura. El signo menos indica que P sufre un descenso. Así,

$$-\frac{dP_x}{P_x} = \frac{dS}{S} \quad (13-4)$$

Recordemos, ahora, que dS es la suma de las áreas de captura de las partículas que se encuentran

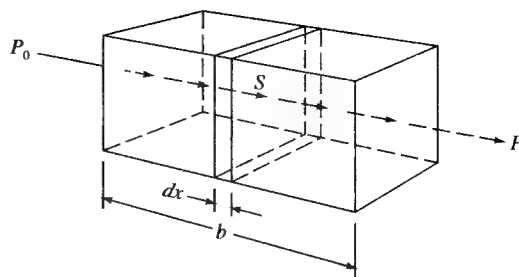


Figura 13-2. Atenuación de una radiación con una potencia inicial P_0 por una disolución que contiene c moles por litro de soluto absorbente y con un camino óptico de b cm. $P < P_0$.

en la sección; por tanto, deberá ser proporcional al número de partículas, o

$$dS = adn \quad (13-5)$$

donde dn es el número de partículas y a es una constante de proporcionalidad, que puede denominarse *sección transversal de captura*. Combinando las Ecuaciones 13-4 y 13-5 e integrando para un intervalo comprendido entre 0 y n , obtenemos,

$$-\int_{P_0}^P \frac{dP_x}{P_x} = \int_0^n \frac{adn}{S}$$

que, al integrar, da,

$$-\ln \frac{P}{P_0} = \frac{an}{S}$$

Transformando en logaritmos decimales e invirtiendo la fracción para cambiar el signo, obtenemos

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{an}{2,303 S} \quad (13-6)$$

donde n es el número total de partículas en el bloque mostrado en la Figura 13-2. El área de la sección transversal S puede expresarse en términos de volumen del bloque V en cm^3 y su longitud b en cm. Así,

$$S = \frac{V}{b} \text{ cm}^2$$

² La discusión que sigue se basa en un artículo de F. C. Strong, *Anal. Chem.*, **1952**, 24, 338.

Al sustituir esta cantidad en la Ecuación 13-6 se obtiene

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{anb}{2,303 V} \quad (13-7)$$

Obsérvese que como n/V tiene unidades de concentración, es decir, número de partículas por centímetro cúbico, podemos convertir n/V en moles por litro. Así, el número de moles viene dado por

$$\text{número de moles} = \frac{n \text{ partículas}}{6,02 \times 10^{23} \text{ partículas/mol}}$$

y c en mol/L viene dado por

$$\begin{aligned} c &= \frac{n}{6,02 \times 10^{23}} \text{ mol} \times \frac{1.000 \text{ cm}^3/\text{L}}{V \text{ cm}^3} \\ &= \frac{1.000 n}{6,02 \times 10^{23} V} \text{ mol/L} \end{aligned}$$

Combinando esta relación con la Ecuación 13-7 se obtiene

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{6,02 \times 10^{23} abc}{2,303 \times 1.000}$$

Finalmente, las constantes en esta ecuación pueden agruparse en un único término ϵ para dar

$$\log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc = A \quad (13-8)$$

que es una formulación de la ley de Beer.

13B-1. Aplicación de la Ley de Beer a mezclas

La ley de Beer también se puede aplicar a un medio que contenga más de una clase de sustancias absorbentes. Siempre que no haya interacción entre las distintas especies, la absorbancia total para un sistema multicomponente viene dado por

$$\begin{aligned} A_{\text{total}} &= A_1 + A_2 + \cdots + A_n \\ &= \epsilon_1 bc_1 + \epsilon_2 bc_2 + \cdots + \epsilon_n bc_n \quad (13-9) \end{aligned}$$

donde los subíndices se refieren a los componentes absorbentes 1, 2, ..., n .

13B-2. Limitaciones de la Ley de Beer

Se han encontrado pocas excepciones a la generalización de que la absorbancia está relacionada linealmente con el camino óptico. Por otra parte, con frecuencia se han encontrado desviaciones de la proporcionalidad entre la medida de la absorbancia y la concentración cuando b es constante. En algunas ocasiones estas desviaciones están relacionadas con el fundamento de la ley y representan limitaciones propias de la misma. Otras veces surgen como consecuencia de la forma en que se realizan las medidas de absorbancia o como resultado de cambios químicos asociados con cambios de concentración; las dos últimas son conocidas a veces como *desviaciones instrumentales* y *desviaciones químicas*, respectivamente.

Limitaciones propias de la Ley de Beer

La ley de Beer describe de forma correcta el comportamiento de absorción de un medio que contiene concentraciones de analito relativamente bajas; en este sentido, es una ley límite. A concentraciones altas (generalmente $> 0,01 \text{ M}$), la distancia media entre las moléculas responsables de la absorción disminuye hasta el punto en que cada molécula altera la distribución de carga de las moléculas vecinas. Esta interacción, a su vez, puede alterar la capacidad de las moléculas para absorber la radiación de una determinada longitud de onda. Como la magnitud de la interacción depende de la concentración, la aparición de este fenómeno da lugar a desviaciones de la linealidad entre la absorbancia y la concentración. Un efecto similar se encuentra, a veces, en medios que contienen concentraciones de absorbente bajas pero concentraciones altas de otras especies, especialmente electrólitos. La estrecha proximidad de los iones al absorbente altera la absorptividad molar de éste por interacciones electrostáticas; el efecto se reduce mediante dilución.

Aunque, normalmente, el efecto de las interacciones moleculares no es significativo para concentraciones inferiores a $0,01 \text{ M}$, entre ciertos iones o moléculas orgánicas grandes aparecen algunas excepciones. Por ejemplo, se ha comprobado que la absorptividad molar del catión del azul de metileno en disoluciones acuosas a 436 nm aumen-

TABLA 13-2. Datos de concentración y absorbancias calculados por las técnicas indicadas en el Ejemplo 13-1

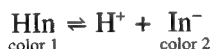
C_{HIn}, M	$[\text{HIn}]$	$[\text{In}^-]$	A_{430}	A_{570}
$2,00 \times 10^{-5}$	$0,88 \times 10^{-5}$	$1,12 \times 10^{-5}$	0,236	0,073
$4,00 \times 10^{-5}$	$2,22 \times 10^{-5}$	$1,78 \times 10^{-5}$	0,381	0,175
$8,00 \times 10^{-5}$	$5,27 \times 10^{-5}$	$2,73 \times 10^{-5}$	0,596	0,401
$12,00 \times 10^{-5}$	$8,52 \times 10^{-5}$	$3,48 \times 10^{-5}$	0,771	0,640
$16,00 \times 10^{-5}$	$11,9 \times 10^{-5}$	$4,11 \times 10^{-5}$	0,922	0,887

ta un 88 por 100 cuando la concentración del colorante aumenta de 10^{-5} a 10^{-2} M; incluso por debajo de 10^{-6} M no se observa un cumplimiento estricto de la ley de Beer.

También surgen desviaciones de la ley de Beer como consecuencia de la dependencia de ϵ con el índice de refracción del medio³. Por ello, si los cambios de la concentración causan alteraciones significativas en el índice de refracción n de una disolución, se observan desviaciones de la ley de Beer. Para este efecto puede hacerse una corrección mediante la sustitución de ϵ por la cantidad $\epsilon n/(n^2 + 2)^2$ en la Ecuación 13-8. En general, esta corrección nunca es muy grande y rara vez es significativa para concentraciones menores de 0,01 M.

Desviaciones químicas

Cuando un analito se disocia, se asocia o reacciona con un disolvente para dar lugar a un producto con un espectro de absorción diferente al del analito, se producen desviaciones de la ley de Beer. Las disoluciones acuosas de los indicadores ácido/base son un ejemplo característico de este comportamiento. Por ejemplo, el cambio de color asociado con un indicador típico HIn se produce como consecuencia de los cambios en el equilibrio



El Ejemplo 13-1 demuestra cómo el desplazamiento de este equilibrio motivado por la dilución da como resultado una desviación de la ley de Beer.

La Figura 13-3 es una representación gráfica de los datos mostrados en la Tabla 13-2, que ilustra los tipos de desviaciones de la ley de Beer que se producen cuando el sistema absorbente es capaz de sufrir disociación o asociación. Obsérvese que la dirección de la curvatura es opuesta en las dos longitudes de onda.

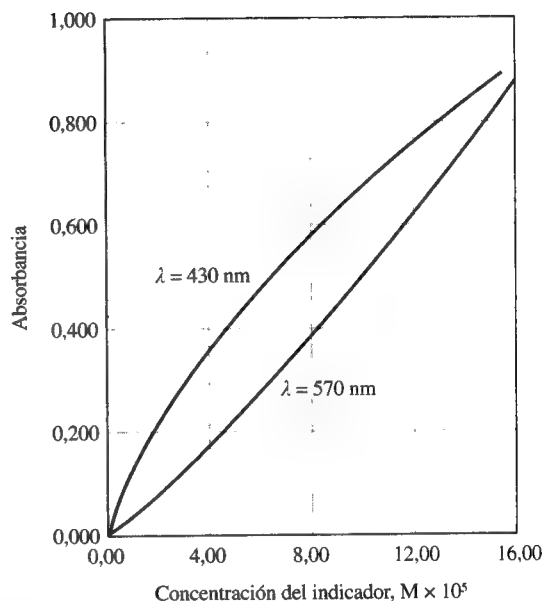


Figura 13-3. Desviaciones químicas de la ley de Beer para disoluciones no tamponadas del indicador HIn. Véanse los datos en el Ejemplo 13-1.

EJEMPLO 13-1

Se determinaron las absorptividades molares a 430 y 570 nm del ácido débil HIn ($K_a = 1,42 \times 10^{-5}$) y de su base conjugada In^- mediante medidas de disoluciones del indicador en medios fuertemente ácidos y fuertemente básicos. Bajo estas condiciones, prácticamente todo el indicador se encontrará como HIn e In^- respectivamente. Los resultados fueron

	ϵ_{430}	ϵ_{570}
HIn	$6,30 \times 10^2$	$7,12 \times 10^3$
In^-	$2,06 \times 10^4$	$9,61 \times 10^2$

³ G. Kortum y M. Seiler, *Angew. Chem.*, **1939**, 52, 687.

Calcular los datos de absorbancia para las disoluciones no tamponadas cuyas concentraciones totales de indicador están comprendidas entre 2×10^{-5} y 16×10^{-5} M.

Calculemos las concentraciones molares de las dos especies $[\text{HIn}]$ e $[\text{In}^-]$ en una disolución donde la concentración total de indicador es $2,00 \times 10^{-5}$ M. Así,



y

$$K_a = 1,42 \times 10^{-5} = \frac{[\text{H}^+][\text{In}^-]}{[\text{HIn}]}$$

de la ecuación correspondiente al proceso de disociación, podemos escribir

$$[\text{H}^+] = [\text{In}^-]$$

Además, la suma de las concentraciones de las dos especies del indicador debe ser igual a la concentración analítica molar total del indicador. Por tanto,

$$[\text{In}^-] + [\text{HIn}] = 2,00 \times 10^{-5}$$

Sustituyendo estas ecuaciones en la expresión para el cálculo de K_a obtenemos

$$\frac{[\text{In}^-]^2}{2,00 \times 10^{-5} - [\text{In}^-]} = 1,42 \times 10^{-5}$$

Reordenando los términos obtenemos la expresión cuadrática

$$[\text{In}^-]^2 + 1,42 \times 10^{-5} [\text{In}^-] - 2,84 \times 10^{-10} = 0$$

La solución positiva de esta ecuación es

$$[\text{In}^-] = 1,12 \times 10^{-5}$$

$$[\text{HIn}] = 2,00 \times 10^{-5} - 1,12 \times 10^{-5} = 0,88 \times 10^{-5}$$

Ahora estamos en condiciones de calcular la absorbancia a las dos longitudes de onda. De esta manera, sustituyendo en la Ecuación 13-9 da

$$A = \epsilon_{\text{In}} b [\text{In}^-] + \epsilon_{\text{HIn}} b [\text{HIn}]$$

$$\begin{aligned} A_{430} &= 2,06 \times 10^4 \times 1,00 \times 1,12 \times 10^{-5} + \\ &\quad 6,30 \times 10^2 \times 1,00 \times 0,88 \times 10^{-5} \\ &= 0,236 \end{aligned}$$

De forma similar, a 570 nm,

$$\begin{aligned} A_{570} &= 9,61 \times 10^2 \times 1,00 \times 1,12 \times 10^{-5} + \\ &\quad 7,12 \times 10^3 \times 1,00 \times 0,88 \times 10^{-5} \\ &= 0,073 \end{aligned}$$

La Tabla 13-2 muestra datos adicionales obtenidos de la misma forma.

Desviaciones instrumentales originadas por la radiación policromática

El cumplimiento estricto de la ley de Beer sólo se observa cuando la radiación es realmente monocromática; esta observación es otra manifestación aun del carácter límite de la ley. Desafortunadamente, en la práctica es raro el uso de radiación restringida a una sola longitud de onda debido a que los dispositivos que aíslan porciones de la señal de salida de una fuente continua generan una banda de longitudes de onda más o menos simétrica en torno a la deseada (véanse Figs. 7-13 y 7-14, por ejemplo).

La siguiente deducción muestra el efecto de la radiación policromática en la ley de Beer.

Considemos un haz formado sólo por dos longitudes de onda λ' y λ'' . Asumiendo que la ley de Beer se aplica estrictamente para cada una de estas longitudes de onda, podemos escribir para la radiación λ'

$$A' = \log \frac{P'_0}{P'} = \epsilon' bc$$

o

$$P'_0/P' = 10^{\epsilon' bc}$$

y

$$P' = P'_0 10^{-\epsilon' bc}$$

De forma similar, para λ''

$$P'' = P''_0 10^{-\epsilon'' bc}$$

Cuando la medida de la absorbancia se realiza utilizando una radiación compuesta por ambas longitudes de onda, la potencia del haz emergente de la disolución viene dado por $P' + P''$ y la del haz del

disolvente por P'_0 y P''_0 . Por tanto, la medida de la absorbancia A_m es

$$A_m = \log \frac{(P'_0 + P''_0)}{(P' + P'')}$$

Sustituyendo por P' y P'' se convierte en

$$A_m = \log \frac{(P'_0 + P''_0)}{(P'_0 10^{-\epsilon'bc} + P''_0 10^{-\epsilon''bc})}$$

o

$$A_m = \log(P'_0 + P''_0) - \log(P'_0 10^{-\epsilon'bc} + P''_0 10^{-\epsilon''bc})$$

Ahora bien, cuando $\epsilon' = \epsilon''$ esta ecuación se simplifica de la siguiente forma

$$A_m = \epsilon'bc$$

y se cumple la ley de Beer. Sin embargo, tal como se muestra en la Figura 13-4, la relación entre A_m y la concentración deja de ser lineal cuando las absorptividades molares difieren entre sí; es más, cabe esperar mayor desviación de la linealidad cuanto mayor sea la diferencia entre ϵ' y ϵ'' . Esta deducción puede extenderse de forma que incluya longitudes de onda adicionales; el efecto seguiría siendo el mismo.

Es un hecho experimental observado que las desviaciones de la ley de Beer resultantes del uso

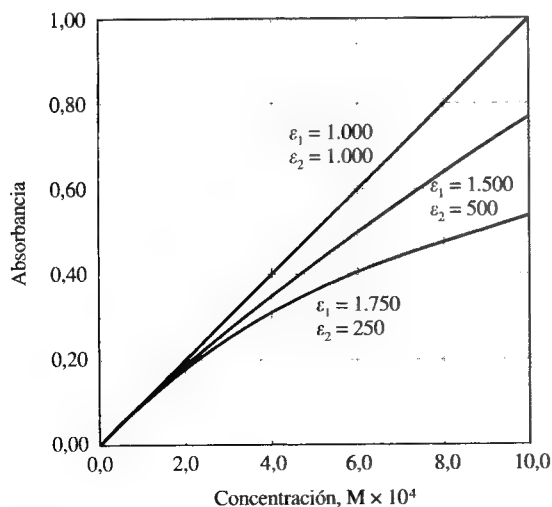


Figura 13-4. Desviaciones de la ley de Beer por efecto de la luz policromática. Se indican las absorptividades molares del absorbente a las dos longitudes de onda, λ' y λ'' .

de un haz policromático no son apreciables, con tal de que la radiación utilizada no abarque una región del espectro en la cual el absorbente muestre cambios grandes en la absorción en función de la longitud de onda. Esta observación se ilustra en la Figura 13-5.

También se ha observado experimentalmente que las medidas de absorbancia en el máximo de los picos estrechos hace que la desviación de la ley de Beer no sea significativa si la anchura de banda efectiva del monocromador o filtro $\Delta\lambda_{ef}$ (Ecuación 7-17) es menor de 1/10 de la mitad de la anchura del pico de absorción en la semialtura.

Desviaciones instrumentales originadas por la radiación parásita

En el Capítulo 7 se ha mostrado que la radiación que emerge del monocromador suele estar contaminada con pequeñas cantidades de radiación dispersada o parásita, la cual alcanza la rendija de salida como resultado de dispersiones y reflexiones en varias superficies internas. La radiación parásita, con frecuencia difiere sustancialmente en su longitud de onda de la radiación principal y, además, puede no haber atravesado la muestra.

Cuando las medidas se hacen en presencia de radiación parásita, la absorbancia observada viene dada por

$$A' = \log \frac{P_0 + P_s}{P + P_s}$$

donde P_s es la potencia de la radiación parásita no absorbida. La Figura 13-6 muestra una representación gráfica de A' frente a la concentración para distintas relaciones de P_s y P_0 . Es digno de destacar que cuando se trata de concentraciones y caminos ópticos elevados, la radiación parásita también puede causar desviaciones significativas en la relación lineal que existe entre la absorbancia y el camino óptico⁴.

Obsérvese que las desviaciones instrumentales ilustradas en la Figura 13-5 y 13-6 dan lugar a absorbancias menores que las teóricas. Puede demostrarse que las desviaciones instrumentales siempre conducen a errores negativos en la absorbancia⁵.

⁴ Para una discusión sobre los efectos de la radiación parásita, véase M. R. Sharpe, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, 339A.

⁵ E. J. Meehan, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.^a ed., P. J. Elving, E. J. Meehan, e I. M. Kolthoff, Eds., Part I, Vol. 7, página 73. New York: Wiley, 1981.

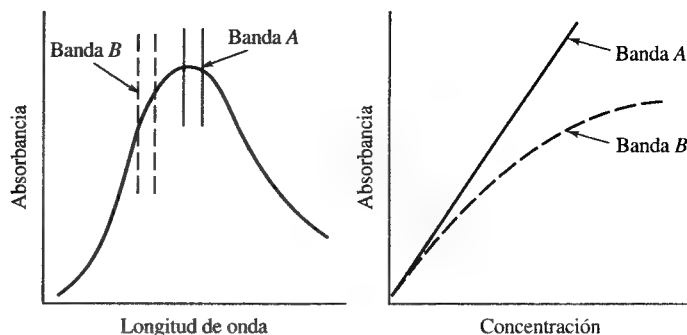


Figura 13-5. Efecto de la radiación policromática sobre la ley de Beer. La banda A presenta una pequeña desviación debido a que ϵ varía poco a lo largo de la misma. La banda B presenta una apreciable desviación por el cambio significativo que sufre ϵ en esta región.

13C. EFECTO DEL RUIDO INSTRUMENTAL EN LOS ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICOS

La exactitud y la precisión de los análisis espectrofotométricos suelen estar limitadas por las incertidumbres o ruidos asociados al instrumento⁶. En el Capítulo 5 encontramos una explicación general sobre el ruido instrumental y sobre la optimización señal/ruido; puede ser útil revisar su contenido antes de emprender el estudio detallado de esta sección.

13C-1. Ruido instrumental como función de la transmitancia

Como ya se ha indicado, una medida espectrofotométrica lleva consigo tres etapas: un ajuste del 0 por 100 de transmitancia, un ajuste del 100 por 100 de transmitancia y una medida del porcentaje de T cuando se sitúa la muestra en la trayectoria de la radiación. El ruido asociado a cada una de estas etapas se combina para dar una incertidumbre neta en el valor final de T obtenido. La relación entre el ruido encontrado en la medida de T y la incertidumbre en la medida de la concentración puede deducirse escribiendo la ley de Beer de esta forma

$$c = -\frac{1}{\epsilon b} \log T = -\frac{0,434}{\epsilon b} \ln T \quad (13-10)$$

⁶ Véase L. D. Rothman, S. R. Crouch, y J. D. Ingle Jr., *Anal. Chem.*, **1975**, 47, 1226; J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Anal. Chem.*, **1972**, 44, 1375; H. L. Pardue, T. E. Hewitt y M. J. Milano, *Clin. Chem.*, **1974**, 20, 1028; J. O. Erickson y T. Surles, *Amer. Lab.*, **1976**, 8 (6), 41; *Optimum Parameters for Spectrophotometry*. Palo Alto, CA: Varian Instruments Division, 1977.

Para relacionar la desviación estándar de la concentración σ_c con la desviación estándar de la transmitancia σ_T se procede como en el Apartado a1B-4, Apéndice 1 tomando la derivada parcial de esta ecuación con respecto a T , manteniendo b y c constantes. Es decir,

$$\frac{\partial c}{\partial T} = -\frac{0,434}{\epsilon b T}$$

Al aplicar la Ecuación a1-28 (Apéndice 1) resulta

$$\sigma_c^2 = \left(\frac{\partial c}{\partial T}\right)^2 \sigma_T^2 = \left(\frac{-0,434}{\epsilon b T}\right)^2 \sigma_T^2 \quad (13-11)$$

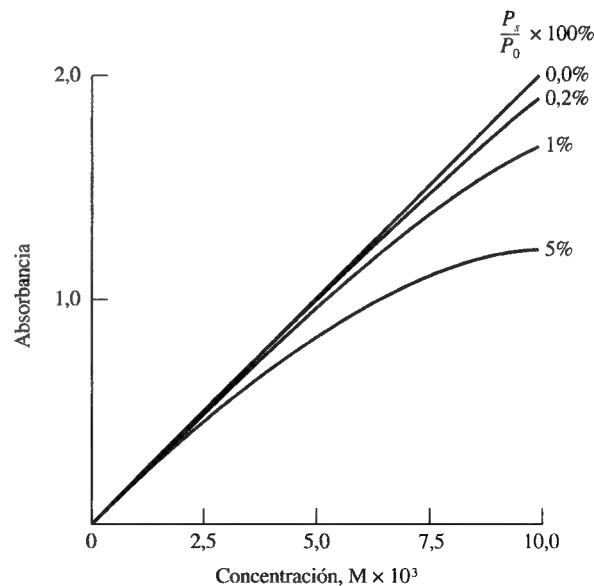


Figura 13-6. Desviación de la ley de Beer producida por radiación parásita de distinta intensidad.

TABLA 13-3. Tipos y fuentes de incertidumbres en las medidas de la transmitancia

Categoría	Caracterizado por*	Fuentes características	Probablemente importante en
Caso I	$s_T = k_1$	Resolución de la lectura limitada	Fotómetros baratos y espectrofotómetros con escalas de medida de la transmitancia pequeñas
		Ruido de Johnson del detector térmico	Espectrofotómetros y fotómetros IR e IR cercano
		Corriente oscura y ruido del amplificador	Regiones en las que la intensidad de la fuente y la sensibilidad del detector son bajas
Caso II	$s_T = k_2 \sqrt{T^2 + T}$	Ruido de disparo del detector de fotones	Espectrofotómetros UV/visible de alta calidad
Caso III	$s_T = k_3 T$	Incertidumbres en la posición de la cubeta	Espectrofotómetros UV/visible e IR de alta calidad
		Parpadeo de la fuente	Fotómetros y espectrofotómetros baratos

* k_1 , k_2 y k_3 son constantes para un sistema dado.

Dividiendo la Ecuación 13-11 por el cuadrado de la Ecuación 13-10 se obtiene

$$\left(\frac{\sigma_c}{c}\right)^2 = \left(\frac{\sigma_T}{T \ln T}\right)^2$$

$$\frac{\sigma_c}{c} = \frac{\sigma_T}{T \ln T} = \frac{0,434}{T \log T} \sigma_T \quad (13-12)$$

Para un número limitado de medidas, se reemplaza la desviación estándar de la población σ_c y σ_T por la desviación estándar de la muestra s_c y s_T (Apartado a1B-1, Apéndice 1) y se obtiene

$$\frac{s_c}{c} = \frac{0,434}{T \log T} s_T \quad (13-13)$$

Esta ecuación relaciona la desviación estándar *relativa* de c (s_c/c) con la desviación estándar absoluta de la medida de transmitancia (s_T). Experimentalmente, s_T puede evaluarse haciendo, por ejemplo, 20 replicados de la medida de transmitancia ($N = 20$) de una disolución repitiendo las medidas exactamente de la misma forma y sustituyendo los datos en la Ecuación a1-9, Apéndice 1.

Al examinar la Ecuación 13-13 vemos que la incertidumbre en la medida fotométrica de la concentración varía de forma no lineal con la magnitud de la transmitancia. Sin embargo, la situación es algo más complicada que lo sugerido por la

Ecuación 13-13, porque la incertidumbre s_T es, en muchas circunstancias, también *dependiente* de T .

13C-2. Fuentes de ruido instrumental

En un estudio teórico y experimental detallado, Rothman, Crouch e Ingle describieron varias fuentes de incertidumbre instrumentales y mostraron su efecto neto sobre la precisión de las medidas de absorbancia o transmitancia⁷. Estas incertidumbres se dividen en tres categorías dependiendo de cómo se ven afectadas por la magnitud de la fotocorriente y en consecuencia de T . Para *las incertidumbres que constituyen el Caso I*, la precisión es independiente de T ; es decir, s_T es igual a la constante k_1 . Para *las incertidumbres que constituyen el Caso II*, la precisión es directamente proporcional a $\sqrt{(T^2 + T)}$. Finalmente, *las incertidumbres que constituyen el Caso III* son directamente proporcionales a T . La Tabla 13-3 resume la información acerca de las fuentes de estos tres tipos de incertidumbres y la clase de instrumentos donde es probable encontrar cada una de ellas.

Caso I: $s_T = k_1$

Las incertidumbres del Caso I se encuentran, a menudo, en los espectrofotómetros o fotómetros ultra-

⁷ L. D. Rothman, S. R. Crouch, y J. D. Ingle Jr., *Anal. Chem.*, **1975**, *47*, 1226.

violeta y visible menos costosos que están equipados con medidores o lectores digitales de resolución limitada. Por ejemplo, un instrumento típico puede estar equipado con un medidor provisto de una escala de 5 a 7 pulgadas en la que se puede apreciar del 0,2 al 0,5 por 100 de la escala completa. Aquí, la incertidumbre absoluta de T es la misma de un extremo al otro de la escala. Algunos instrumentos digitales presentan una limitación similar en la resolución de la lectura.

Los espectrofotómetros de radiación en el infrarrojo e infrarrojo cercano también presentan un comportamiento tipo Caso I. En éstos, *el error aleatorio limitante surge*, generalmente, del ruido de Johnson en el detector térmico. Recordemos (Apartado 5B-2) que este tipo de ruido es independiente de la magnitud de la fotocorriente; de hecho, se observan fluctuaciones incluso en ausencia de radiación y, por tanto, de corriente neta.

La corriente oscura y el ruido del amplificador son, generalmente, pequeños comparados con otras fuentes de ruido en los instrumentos fotométricos y espectrofotométricos y se hacen importantes sólo bajo condiciones de fotocorrientes débiles, situación en la que la intensidad de la lámpara o la sensibilidad del fotodetector es baja. Por ejemplo, estas condiciones se dan, con frecuencia, cerca de las longitudes de onda extremas de un instrumento.

La precisión en las medidas de concentración obtenidas con un instrumento que está limitado por

un ruido tipo Caso I puede obtenerse directamente sustituyendo un determinado valor experimental por $s_T = k_1$ en la Ecuación 13-13. Aquí, la precisión en la determinación de una concentración particular depende de la magnitud de T aunque la precisión instrumental sea independiente de T . La tercera columna de la Tabla 13-4 muestra los datos obtenidos con la Ecuación 13-13 habiendo asumido un valor de desviación estándar absoluta s_T de $\pm 0,003$ o $\pm 0,3$ por 100 T . La curva A de la Figura 13-7 muestra una representación gráfica de los datos.

Una incertidumbre indeterminada de 0,3 por 100 T es característica de muchos espectrofotómetros y fotómetros de precios moderados. Naturalmente, con tales instrumentos, los errores relativos esperados en las concentraciones son del 1 al 2 por 100. Es evidente también, que este nivel de precisión sólo se conseguirá cuando la absorbancia de la muestra se encuentre entre aproximadamente 0,1 y 1.

$$\text{Caso II: } s_T = k_2 \sqrt{T^2 + T}$$

Este tipo de incertidumbre limita, a menudo, la precisión de los instrumentos de mayor calidad. Tiene su origen en el ruido de disparo (Apartado 5B-2), que debe esperarse siempre que el paso de electricidad incluya la transferencia de carga a través de una unión, tal como el movimiento de electrones del cátodo al ánodo de un tubo fotomulti-

TABLA 13-4. Precisión relativa de las medidas de la concentración en función de la transmitancia y absorbancia, para las tres categorías de ruido instrumental

Transmitancia, T	Absorbancia, A	Desviación estándar relativa de la concentración ^a		
		Ruido tipo Caso I ^b	Ruido tipo Caso II ^c	Ruido tipo Caso III ^d
0,95	0,022	$\pm 6,2$	$\pm 8,4$	$\pm 25,3$
0,90	0,046	$\pm 3,2$	$\pm 4,1$	$\pm 12,3$
0,80	0,097	$\pm 1,7$	$\pm 2,0$	$\pm 5,8$
0,60	0,222	$\pm 0,98$	$\pm 0,96$	$\pm 2,5$
0,40	0,398	$\pm 0,82$	$\pm 0,61$	$\pm 1,4$
0,20	0,699	$\pm 0,93$	$\pm 0,46$	$\pm 0,81$
0,10	1,00	$\pm 1,3$	$\pm 0,43$	$\pm 0,56$
0,032	1,50	$\pm 2,7$	$\pm 0,50$	$\pm 0,38$
0,010	2,00	$\pm 6,5$	$\pm 0,65$	$\pm 0,28$
0,0032	2,50	$\pm 16,3$	$\pm 0,92$	$\pm 0,23$
0,0010	3,00	$\pm 43,4$	$\pm 1,4$	$\pm 0,19$

^a $(s_i/c) \times 100 \%$.

^b De la Ecuación 13-13 con $s_T = k_1 = \pm 0,0030$.

^c De la Ecuación 13-14 con $k_2 = \pm 0,0030$.

^d De la Ecuación 13-15 con $k_3 = \pm 0,013$.

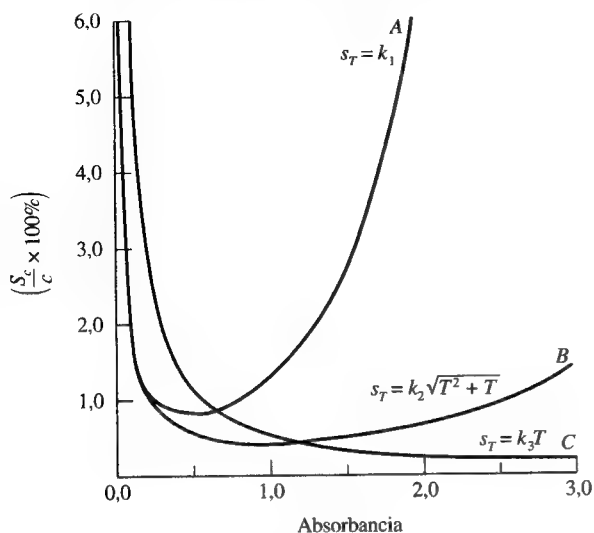


Figura 13-7. Incertidumbres relativas en la concentración provocadas por distintas categorías de ruidos instrumentales: A, Caso I; B, Caso II; C, Caso III. Los datos utilizados son los que aparecen en la Tabla 13-4.

plicador. En este caso, se crea una corriente eléctrica como consecuencia de una serie de sucesos individuales (emisión de electrones de un cátodo), cuyo número por unidad de tiempo se distribuye de forma aleatoria alrededor de un valor medio. La magnitud de las fluctuaciones de corriente es proporcional a la raíz cuadrada de la corriente (véase Ecuación 5-5, página 106). El efecto del ruido de disparo sobre s_c se deduce sustituyendo s_T en la Ecuación 13-13. La reorganización de los términos nos lleva a

$$\frac{s_c}{c} = \frac{0,434}{\log T} \frac{k_2}{\sqrt{\frac{1}{T} + 1}} \quad (13-14)$$

Los datos de la cuarta columna de la Tabla 13-4 se obtuvieron con la ayuda de la Ecuación 13-14. La curva B de la Figura 13-7 es una representación gráfica de dichos datos. Obsérvese el mayor intervalo de absorbancias que puede abarcarse sin serias pérdidas de exactitud cuando la precisión está limitada por el ruido de disparo en lugar de estarlo por el ruido de Johnson. Este incremento en el intervalo representa una mayor ventaja de los detectores fotónicos sobre los térmicos que se representan en la curva A de la figura. Como en los instrumentos limitados por el ruido de Johnson, los instrumentos limitados por el ruido de disparo no generan datos de concentración muy fiables cuando las transmitancias son mayores de 95 por 100 (o $A < 0,02$).

Caso III: $s_T = k_3 T$

Una de las fuentes de este tipo de ruido es la lenta deriva en la señal de salida radiante de la fuente; este tipo de ruido puede denominarse *ruido de parpadeo de la fuente* (Apartado 5B-2). El efecto de las fluctuaciones de la intensidad de una fuente puede minimizarse mediante el uso de fuentes de alimentación de potencial constante o mediante un sistema de división del haz (página 338). En muchos instrumentos, el ruido de parpadeo de la fuente no limita su funcionamiento.

Una fuente de ruido importante y muy común, proporcional a la transmitancia, aparece al realizar los replicados de la transmitancia y tiene su origen en la falta de reproducibilidad en la posición de las cubetas de la muestra y de la disolución de referencia, respecto al haz, durante las medidas de los replicados de transmitancia. Todas las cubetas tienen pequeñas imperfecciones. Como consecuencia, las pérdidas por reflexión y dispersión varían cuando se exponen al haz distintas secciones de la ventana de la cubeta, dando lugar a pequeñas variaciones en la transmitancia. Rothman, Crouch e Ingle mostraron que esta incertidumbre es, a menudo, la limitación más común en la exactitud de los espectrofotómetros ultravioleta/visible de alta calidad. Es también una fuente de incertidumbre importante en los instrumentos de infrarrojo.

Un método de reducir el efecto de la posición de la cubeta en un instrumento de doble haz consiste en no mover las cubetas de su lugar en el espectrofotómetro durante la calibración y el análisis; los patrones y las muestras nuevas se introducen en la cubeta correspondiente después del lavado y enjuagado de las mismas con una jeringa. Debe ponerse mucho cuidado para evitar tocar o golpear las cubetas durante este proceso.

El efecto de las incertidumbres proporcionales a la transmitancia sobre los resultados analíticos puede obtenerse sustituyendo $s_T = k_3 T$ en la Ecuación 13-13, dando

$$\frac{s_c}{c} = - \frac{0,434}{\log T} \frac{k_3}{T} \quad (13-15)$$

La quinta columna de la Tabla 13-4 contiene los datos obtenidos con la Ecuación 13-15, suponiendo un valor de k_3 de 0,013, que se aproxima al valor observado en el estudio realizado por Rothman,

Crouch e Ingle. La datos se representan gráficamente en la curva C de la Figura 13-7⁸.

13C-3. Efecto de la anchura de la rendija en las medidas de absorbancia

Como se muestra en el Apartado 7C-3, para conseguir espectros complejos bien resueltos se requieren anchuras de rendija estrechas⁹. Por ejemplo, la Figura 13-8 ilustra la pérdida de resolución que acompaña al uso de rendijas anchas. En este ejemplo, se obtuvo el espectro de transmitancia de un cristal de didimio con un ajuste de la rendija que proporcionó anchuras de banda efectivas de 0,5; 9 y 20 nm. La pérdida progresiva de los detalles espectrales es clara. Para estudios cualitativos, tales pérdidas son, con frecuencia, de gran importancia.

La Figura 13-9 ilustra un segundo efecto de la anchura de la rendija sobre los espectros compuestos por picos estrechos. Aquí, se obtuvo el espectro de una disolución de cloruro de praseodimio con rendijas ajustables a 1,0; 0,5 y 0,1 mm. Obsérvese que los valores de absorbancia aumentan significativamente (hasta un 70 por 100 en uno de los casos) cuando la anchura de la rendija disminuye. Para ajustes de la rendija menores de aproximadamente 0,14 mm, se encontró que las absorbancias eran independientes de la anchura de la rendija. Un cuidadoso examen de la Figura 13-8 revela el mismo tipo de efecto. En ambos conjuntos de espectros, las áreas bajo los picos individuales son las mismas, pero anchuras de rendija elevadas dan lugar a picos más anchos y más bajos.

De la observación de estas figuras resulta evidente que la medida cuantitativa de las bandas de absorción estrechas requieren el uso de anchuras de rendija estrechas o, alternativamente, ajustes de anchura de rendija muy reproducibles.

Desafortunadamente, una disminución en la anchura de rendija va acompañada por una reduc-

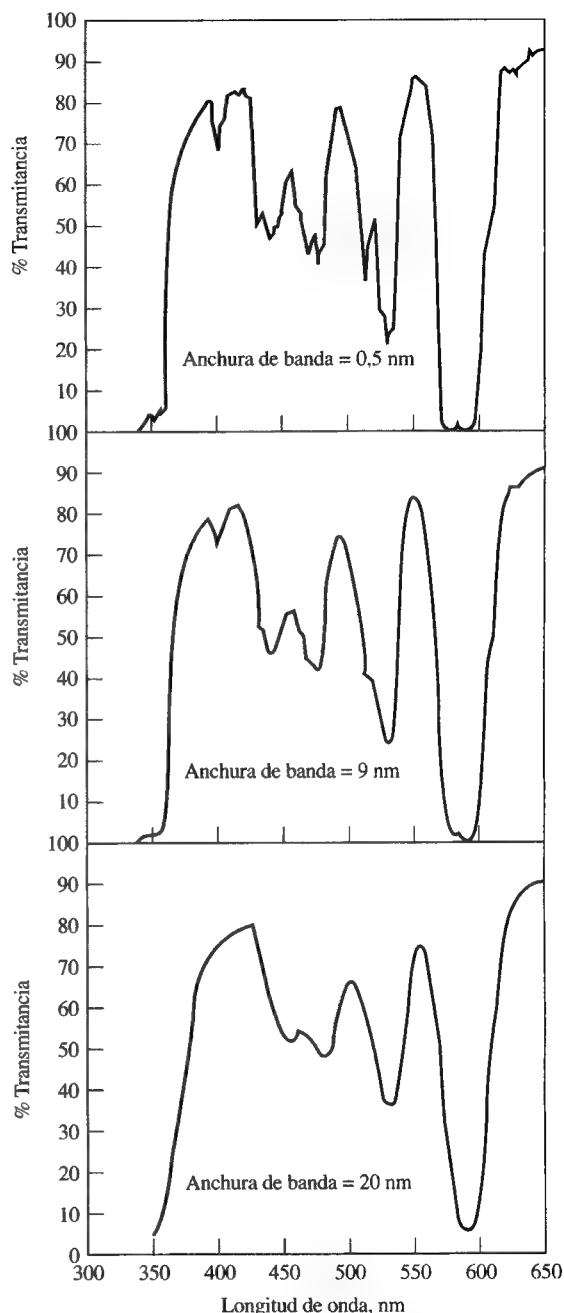


Figura 13-8. Efecto de la anchura de banda en la definición espectral. La muestra es un cristal de didimio. (Espectros proporcionados por cortesía de Amsco Instrument Company [anteriormente G. K. Turner Associates, Carpinteria, CA].)

⁸ Para ver cómo se puede utilizar el ajuste de la curva para obtener k_1 , k_2 y k_3 a partir de los datos de absorción experimental, véase F. J. Holler, *Mathcad Applications for Analytical Chemistry*, págs. 147-149. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1994.

⁹ Para una discusión sobre el efecto de la anchura de la rendija en el espectro, véase *Optimum Parameters for Spectrophotometry*. Palo Alto, CA: Varian Instruments Division, 1977; F. C. Strong III, *Anal. Chem.*, **1976**, *48*, 2155; D. D. Gilbert, *J. Chem. Educ.*, **1991**, *68*, A278.

ción exponencial de segundo orden en la energía radiante; cuando se usan ajustes muy estrechos pueden perderse detalles espectrales como consecuencia de un aumento en la relación señal/ruido.

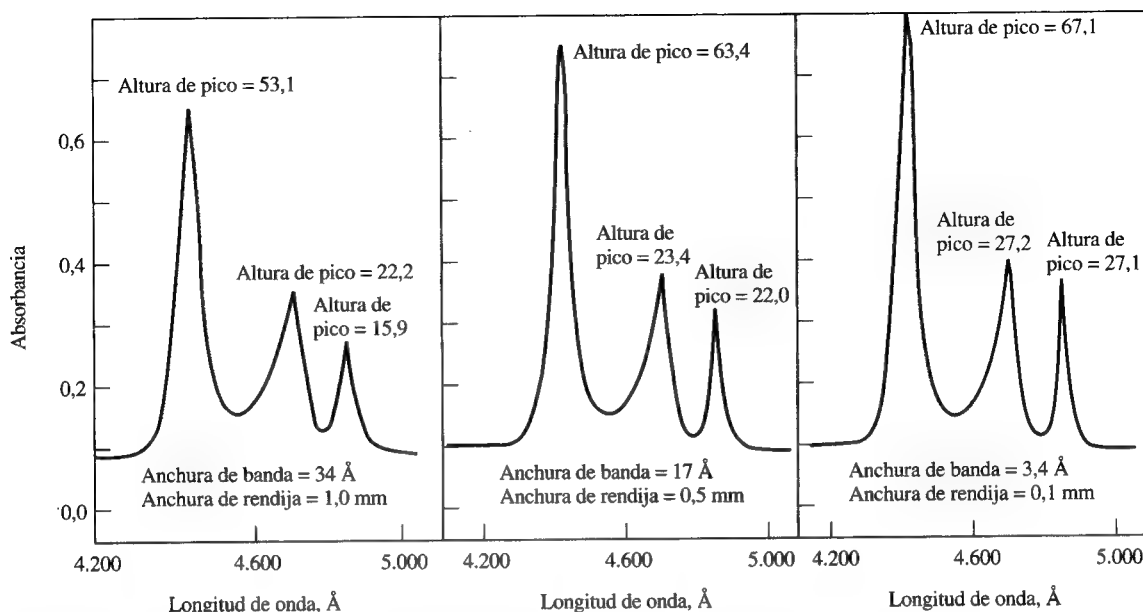


Figura 13-9. Efecto de la anchura de rendija y de la anchura de banda en la altura de los picos. La muestra es una disolución de cloruro de praseodimio. (*De Optimum Spectrophotometer Parameters, Application Report AR 14-2. Cary Instruments: Monrovia, CA. Con autorización.*)

Esta situación se hace particularmente importante en las regiones espectrales en las cuales la señal de salida de la fuente o la sensibilidad del detector son bajas. Bajo tales circunstancias, el ruido, en cualquiera de estos componentes o sus circuitos electrónicos asociados, puede originar una pérdida parcial o total de la estructura fina del espectro.

En general, desde el punto de vista práctico, es aconsejable no estrechar la rendija más de lo que sería necesario para el espectro. En los espectrofotómetros de rendija variable, el ajuste de rendija apropiado se puede determinar obteniendo espectros con rendijas cada vez más estrechas hasta que las alturas de los picos se mantengan constantes. Generalmente, se observan alturas de pico constantes cuando la anchura de banda efectiva del instrumento es 0,1 o inferior a la anchura de banda efectiva del pico de absorción.

13C-4. Efecto de la radiación dispersada de longitudes de onda extremas de un instrumento

Ya hemos apuntado que la radiación dispersada puede causar desviaciones instrumentales de la ley de Beer. Cuando las medidas se realizan a las longitudes de onda extremas de un instrumento, los

efectos de la radiación parásita pueden ser incluso más serios, y en ocasiones pueden llevar a la aparición de falsos picos de absorción. Por ejemplo, consideremos un espectrofotómetro para la región visible equipado con óptica de vidrio, una fuente de wolframio y una célula fotovoltaica como detector. A longitudes de onda por debajo de aproximadamente 380 nm, las ventanas, cubetas y prisma comienzan a absorber radiación, reduciendo así la energía que llega al detector. La señal de salida de la fuente también desciende rápidamente en esta región; la sensibilidad del dispositivo fotoeléctrico también disminuye. Por ello, la señal total para el ajuste del 100 por 100 T puede ser tan baja como el 1 o 2 por 100 de la señal correspondiente en la región comprendida entre 500 y 650 nm.

Sin embargo, la radiación dispersada está compuesta, a veces, por longitudes de onda a las cuales el instrumento es muy sensible. Por ello, este efecto puede verse enormemente amplificado. De hecho, en algunos casos, la señal de salida producida por la radiación parásita puede exceder a la del haz que procede del monocromador; bajo estas circunstancias, la absorbancia medida procede tanto de la radiación parásita como de la radiación que se ha seleccionado en el instrumento.

En la Figura 13-10 se muestra un ejemplo de la aparición de un falso pico a las longitudes de onda

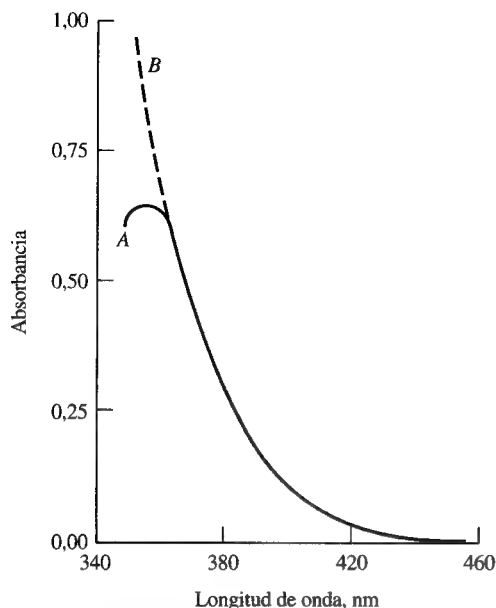


Figura 13-10. Espectro del cerio(IV) obtenido con un espectrofotómetro con óptica de vidrio (A) y óptica de cuarzo (B). El falso pico en A surge de la transmisión de radiación parásita de longitudes de onda más largas.

extremas de un espectrofotómetro de la región visible. La curva B corresponde al espectro de una disolución de cerio(IV) obtenido con un espectrofotómetro ultravioleta/visible, sensible en la región de 200 a 750 nm. La curva A es un espectro de la misma disolución obtenido con un espectrofotómetro visible sencillo. El máximo aparente que aparece en la curva A se debe a la respuesta del instrumento a la radiación parásita de longitudes de onda más largas que 400 nm, que no son absorbidas por los iones cerio(IV) (como puede verse en los espectros).

Este mismo efecto se observa algunas veces con instrumentos ultravioleta/visible cuando se intenta medir absorbancias a longitudes de onda más bajas de aproximadamente 200 nm.

13D. INSTRUMENTACIÓN

El científico interesado en medidas de absorción en las regiones ultravioleta, visible e infrarrojo cercano dispone de cien o más modelos de instrumentos para elegir. Algunos son sencillos y baratos (unos cientos de dólares); otros son equipos complejos, informatizados cuyo precio asciende y supera los 30.000 dólares. Para muchas aplicaciones, los ins-

trumentos más sencillos proporcionan información tan rápida y satisfactoria como la obtenida por los equipos más sofisticados. Por otra parte, los instrumentos más complejos se han desarrollado para realizar tareas difíciles, que requieren mucho tiempo, o imposibles de realizar con los más sencillos¹⁰.

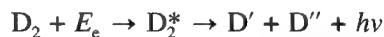
13D-1. Componentes de los instrumentos

Los instrumentos para medir la absorción de radiación ultravioleta, visible y en el infrarrojo cercano están compuestos por uno o más de los siguientes componentes: (1) fuentes, (2) selectores de longitud de onda, (3) recipientes para la muestra, (4) detectores de radiación y (5) procesadores de señal y dispositivos de lectura. El diseño y funcionamiento de los componentes 2, 4 y 5 se han descrito con riguroso detalle en el Capítulo 7 y por ello no se van a tratar aquí. Sin embargo, se considerarán brevemente las características de las fuentes y los recipientes de las muestras para la región comprendida entre 185 y 3.000 nm.

Fuentes

Cuando se trata de medidas de absorción molecular es necesario disponer de una fuente continua cuya potencia no cambie bruscamente en un intervalo considerable de longitudes de onda.

Lámparas de deuterio e hidrógeno. La excitación eléctrica del deuterio o hidrógeno a baja presión produce un espectro continuo en la región ultravioleta. El mecanismo por el cual se produce el espectro continuo requiere la formación inicial de una especie *molecular* excitada seguida de la disociación de la molécula excitada para dar dos especies atómicas más un fotón ultravioleta. Las reacciones para el deuterio son



donde E_e es la energía eléctrica absorbida por la molécula y D_2^* es la molécula de deuterio excitada.

¹⁰ Para un interesante artículo que trata de los instrumentos comerciales para las medidas de absorción ultravioleta/visible, véase R. Jarnutowski, J. R. Ferraro, y D. C. Lankin, *Spectroscopy*, **1992**, 7 (7), 22; I. R. Altemose, *J. Chem. Educ.*, **1986**, 63, A216, A262.

La energía del proceso global puede representarse mediante la ecuación

$$E_e = E_{D_2^*} = E_{D'} + E_{D''} + h\nu$$

Aquí, $E_{D_2^*}$ es la *energía cuantizada fija* de D_2^* mientras $E_{D'}$ y $E_{D''}$ son las *energías cinéticas* de los dos átomos de deuterio. La suma de las dos últimas puede variar continuamente desde cero hasta $E_{D_2^*}$. Por ello, la energía y la frecuencia del fotón también puede variar continuamente. Es decir, cuando, por casualidad, las dos energías cinéticas son pequeñas $h\nu$ será grande, y viceversa. La consecuencia es un verdadero espectro continuo desde aproximadamente 160 nm hasta el comienzo de la región visible (véase Fig. 13-11).

Las lámparas más modernas de este tipo contienen deuterio y son de bajo voltaje, en ellas se forma un arco entre un filamento caliente recubierto de óxido y un electrodo metálico. El filamento caliente suministra electrones para mantener una corriente continua cuando se aplica un potencial de aproximadamente 40 V; para intensidades constantes es necesario una fuente de alimentación estabilizada.

Una característica importante de las lámparas de deuterio e hidrógeno es la forma de la apertura entre los dos electrodos, que reduce la descarga a una trayectoria estrecha. Como consecuencia, se produce una esfera de radiación intensa de aproximadamente 1 a 1,5 mm de diámetro. El deuterio da una esfera algo más grande e intensa que el hidrógeno, lo que justifica el extendido uso de aquél.

Ambas lámparas de deuterio e hidrógeno producen un espectro continuo útil para la región comprendida entre 160 y 375 nm. A longitudes de onda

más largas (>400 nm), las lámparas producen líneas de emisión que se superponen sobre el espectro continuo. Para muchas aplicaciones, estas líneas suponen un inconveniente; sin embargo, pueden ser útiles para calibrar las longitudes de onda de los instrumentos de absorción.

Las lámparas de deuterio e hidrógeno deben presentar ventanas de cuarzo ya que el vidrio absorbe fuertemente a longitudes de onda menores de aproximadamente 350 nm.

Lámpara de filamento de wolframio. La fuente más común de radiación visible del infrarrojo cercano es la lámpara de filamento de wolframio. La distribución de energía de esta fuente se aproxima a la del cuerpo negro y, por ello, depende de la temperatura. La Figura 6-18 (página 141) muestra el comportamiento de una lámpara de filamento de wolframio a 3.000 K. En la mayoría de los instrumentos, la temperatura de trabajo del filamento es 2.870 K; así, la mayor parte de la energía emitida corresponde a la región del infrarrojo. La lámpara de filamento de wolframio es útil para la región de longitudes de onda comprendida entre 350 y 2.500 nm. El límite inferior viene impuesto por la absorción de radiación que se produce en la envoltura de vidrio que rodea al filamento.

En la región visible, la energía de la señal de salida de una lámpara de wolframio varía aproximadamente con la cuarta potencia del potencial de trabajo. Como consecuencia, para conseguir una fuente de radiación estable se requiere un control minucioso del potencial. Para alcanzar la estabilidad necesaria, generalmente se emplean transformadores a potencial constante o reguladores electrónicos de potencial. Como una alternativa, la lámpara puede trabajar con una batería de almacenamiento de 6 V, que proporciona una fuente de potencial notablemente estable si se mantiene en buenas condiciones.

Las lámparas de wolframio/halógeno contienen una pequeña cantidad de yodo en la envoltura de cuarzo que rodea al filamento de wolframio. Es necesario el uso de cuarzo debido a la alta temperatura de trabajo (~ 3.500 K) de la lámpara. El tiempo de vida de una lámpara de wolframio/halógeno es más que el doble del de una lámpara normal. Este aumento de vida se debe a la reacción del yodo con el wolframio gaseoso que se forma por sublimación y que normalmente limita la vida del filamento, el producto de esta reacción es la especie volátil WI_2 . Cuando las moléculas de este compuesto cho-

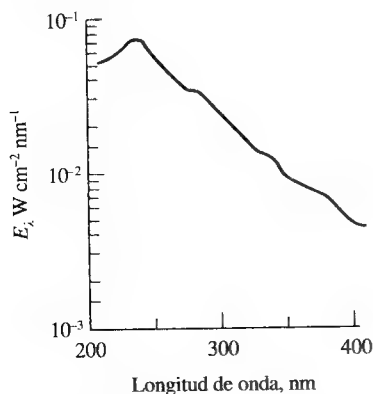


Figura 13-11. Señal de salida de la lámpara de deuterio.

can con el filamento, se produce la descomposición del mismo y el redeposición de wolframio. Las lámparas de wolframio/halógeno son bastante más eficaces y extienden el intervalo de señal de salida hasta bien entrada la región ultravioleta. Por estas razones se encuentran en muchos instrumentos espectroscópicos modernos.

Lámparas de arco de xenón. Estas lámparas producen una radiación intensa como consecuencia del paso de una corriente a través de una atmósfera de xenón. El espectro es continuo en un intervalo comprendido entre aproximadamente 200 y 1.000 nm, con el máximo de intensidad a aproximadamente 500 nm (véase Fig. 6-18, página 141). En algunos instrumentos, la lámpara funciona de forma intermitente mediante descargas regulares que proceden de un condensador; se obtienen altas intensidades.

Recipientes para la muestra

Al igual que los demás elementos ópticos de un instrumento de absorción, las celdas o *cubetas*, que contienen a la muestra y al disolvente deben construirse de un material que deje pasar la radiación de la región espectral de interés. Así, como se muestra en la Figura 7-2a (página 153), para trabajar en la región ultravioleta (por debajo de 350 nm) se requiere cuarzo o sílice fundida; cualquiera de estas sustancias son transparentes en la región visible y en la región del infrarrojo, hasta aproximadamente 3 μm . Los vidrios silicatados pueden emplearse en la región entre 350 y 2.000 nm. En la región visible también se pueden utilizar los recipientes de plástico.

Las mejores cubetas tienen ventanas perfectamente perpendiculares a la dirección del haz para minimizar las pérdidas por reflexión. La longitud de la cubeta más común para los estudios en las regiones ultravioleta y visible es de 1 cm; varias casas comerciales suministran cubetas de este tamaño, contrastadas y calibradas. También se pueden adquirir cubetas de otros espesores, desde 0,1 cm (o más estrechas) hasta 10 cm. Y también es posible disponer de espaciadores transparentes para acortar el camino óptico de las cubetas de 1 cm y convertirlo en 0,1 cm.

Por razones de economía, a veces se emplean las cubetas cilíndricas en las regiones ultravioleta y visible. Hay que poner especial cuidado en reproducir la posición de la cubeta con respecto al haz;

de lo contrario, las variaciones en el camino óptico y en las pérdidas por reflexión en las superficies curvas pueden causar errores significativos.

La calidad de las medidas de absorbancia depende de forma crítica del uso y mantenimiento que se haga de las cubetas contrastadas. Las huellas dactilares, la grasa u otras señales sobre las paredes de las cubetas alteran notablemente las características de transmisión. Por ello, es indispensable una limpieza completa antes y después de su uso; la superficie de las ventanas no debe tocarse durante su manipulación. Las cubetas contrastadas nunca deben secarse mediante la acción del calor, en un horno o sobre una llama —este tratamiento puede causar daños físicos o cambios en el camino óptico. Las cubetas deberían calibrarse regularmente entre sí con una disolución absorbente.

13D-2. Tipos de instrumentos

En esta sección, se consideran cuatro tipos generales de instrumentos espectroscópicos: (1) haz sencillo, (2) doble haz espacial, (3) doble haz temporal, y (4) multicanal.

Instrumentos de haz sencillo

La Figura 13-12a es un esquema de un instrumento de haz sencillo para medidas de absorción. Consta de una de las fuentes de radiación descritas en la sección anterior de este capítulo, un filtro o un monocromador para la selección de la longitud de onda, cubetas contrastadas que pueden interponerse alternativamente en el haz de radiación, uno de los detectores descritos en el Apartado 7E, un amplificador y un dispositivo de lectura. Normalmente, un instrumento de haz sencillo necesita una fuente de alimentación estabilizada para evitar errores como resultado de los cambios en la intensidad del haz durante el tiempo requerido para ajustar el 100 por 100 T y determinar el porcentaje T del analito.

Entre los instrumentos de haz sencillo hay grandes diferencias en cuanto a su complejidad y características de funcionamiento. El más sencillo y más barato consta de una bombilla de wolframio conectada a una batería, como fuente de radiación, un conjunto de filtros de vidrio para la selección de la longitud de onda, tubos de ensayo para contener la muestra, una célula fotovoltaica como detector, y un pequeño microamperímetro como dispositivo

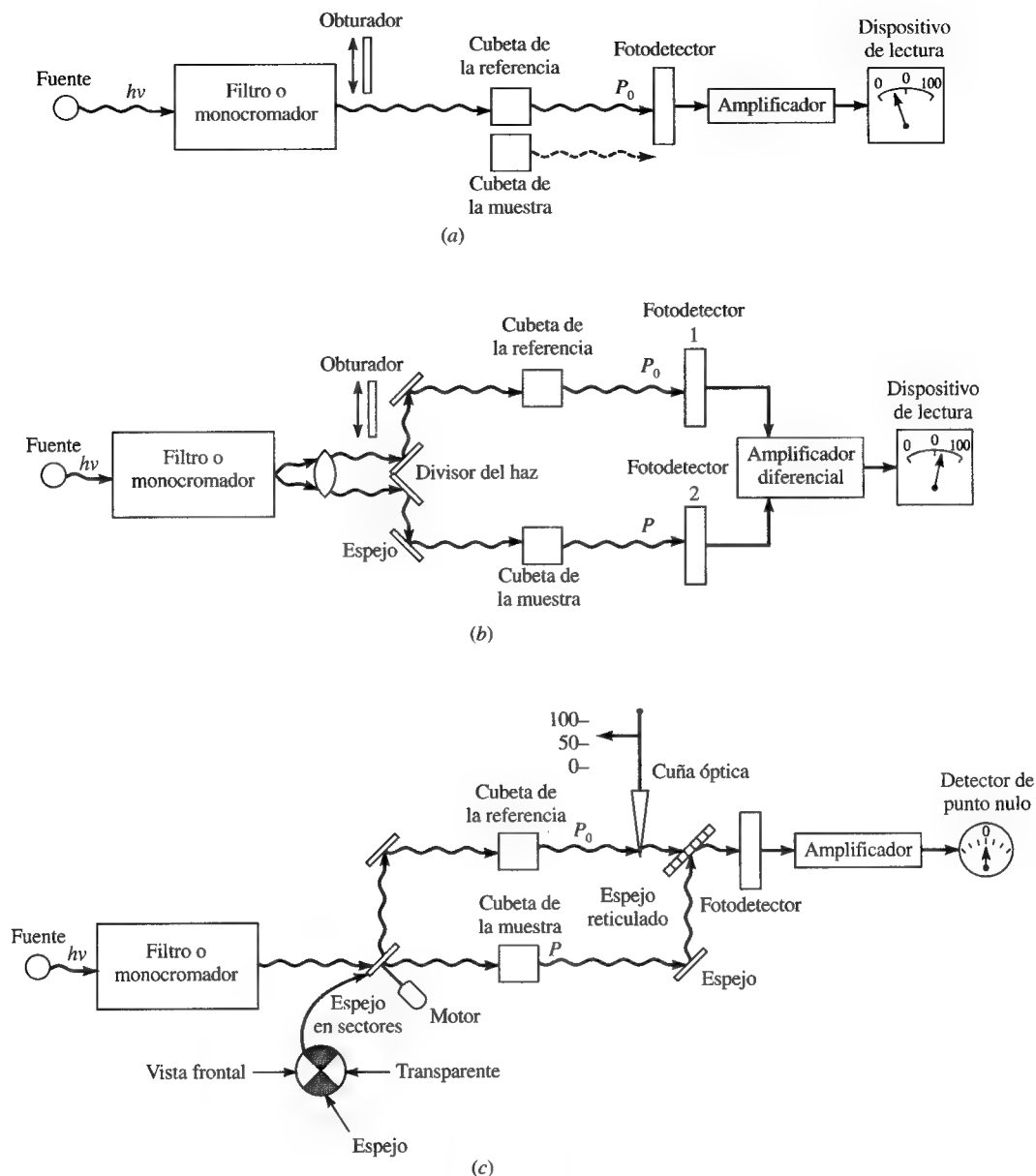


Figura 13-12. Diseños instrumentales para fotómetros y espectrofotómetros: (a) instrumentos de haz sencillo, (b) instrumento de doble haz con haces separados en el espacio, (c) instrumentos de doble haz con haces separados en el tiempo.

de lectura. En el otro extremo se encuentran los instrumentos sofisticados, controlados por un ordenador, con un intervalo de longitudes de onda 200 a 1.000 nm o superior. Estos espectrofotómetros tienen, como fuentes, lámparas de wolframio/deuterio intercambiables, utilizan cubetas de sílice y están equipados con un monocromador de red de alta resolución con rendijas variables. Como detectores se emplean tubos fotomultiplicadores y la señal de

salida a menudo se digitaliza y almacena para que pueda imprimirse o registrarse de diversas formas.

Instrumentos de doble haz

Muchos fotómetros y espectrofotómetros modernos presentan diseños de doble haz. La Figura 13-12b ilustra un instrumento de doble haz en el espacio en el cual, mediante un espejo en forma de V llamado

divisor de haz, se forman dos haces en el espacio. Un haz pasa a través de la disolución de referencia y continúa hasta un fotodetector, simultáneamente el segundo atraviesa la muestra hasta un segundo detector contrastado. Las dos señales de salida se amplifican y su cociente (o el log de su cociente) se determina electrónicamente y se visualiza mediante un dispositivo de lectura. Con los instrumentos manuales, la medida se realiza en dos etapas que suponen primero el ajuste del cero mediante un obturador entre el selector y el divisor de haz. En la segunda etapa, el obturador se abre y se lee directamente la transmitancia o absorbancia en el dispositivo de medida.

En la Figura 13-12c se ilustra el segundo tipo de instrumentos de doble haz. En este caso, los haces se separan en el tiempo mediante un espejo en sectores rotatorio que dirige todo el haz que emerge del monocromador, primero a través de la cubeta de referencia y luego a través de la cubeta de la muestra. Los impulsos de radiación se recombinan mediante otro espejo en sectores que transmite un impulso y refleja el otro hacia el detector. Como se muestra en la Figura 13-12c con la descripción «vista frontal», el espejo en sectores accionado por un motor está formado por segmentos circulares, la mitad de ellos son reflectantes y la otra mitad son transparentes. Las secciones especulares se sostienen mediante armazones de metal ennegrecido que interrumpe el haz periódicamente evitando que llegue al detector. El circuito de detección está programado para emplear estos períodos de tiempo en el ajuste de la corriente oscura.

El instrumento representado en la Figura 13-12c es de tipo nulo, en el cual el haz que pasa a través del disolvente se atenúa hasta que su intensidad se iguala a la del haz que pasa por la muestra. La atenuación se realiza, en este diseño, mediante una cuña óptica, cuya transmisión disminuye con su longitud. De ese modo, el punto nulo se alcanza introduciendo la cuña en el haz hasta que los dos impulsos eléctricos sean idénticos como indica el detector nulo. La transmitancia (o absorbancia) se lee directamente en el indicador de escala unido a la cuña.

Los instrumentos de doble haz ofrecen la ventaja de compensar tanto las llamadas fluctuaciones más cortas en la radiación que sale de la fuente como las derivas del detector y amplificador. También compensan las grandes variaciones en la intensidad de la fuente con la longitud de onda (véase Figura 13-11). Además, el diseño de doble haz per-

mite el registro continuo de espectros de transmitancia o absorbancia. Como consecuencia, los instrumentos con registrador ultravioleta y visible más modernos son de doble haz (generalmente en tiempo). Los espectrofotómetros de infrarrojo de barrido se basan, frecuentemente, en este diseño.

Instrumentos multicanales

El tipo de espectrofotómetro más reciente, que apareció en el mercado al principio de los años ochenta, es un instrumento de haz sencillo con un detector de diodos en serie descrito en el Apartado 7E-3. En la Figura 13-13 se muestra un esquema sencillo de uno de estos espectrómetros con diodos en serie. La radiación que procede de la lámpara se enfoca sobre el recipiente de la muestra o del disolvente, pasando después por el interior de un monocromador de red fija. La radiación dispersada incide en el detector de fotodiodos en serie, que, como mencionamos antes está formado por una serie lineal de varios cientos de fotodiodos que se han colocado a lo largo de un chip de silicio. Normalmente, los chips tienen de 1 a 6 cm de longitud y la anchura de los diodos individuales es de 15 a 50 μm . Este chip contiene también un condensador y un interruptor electrónico por cada diodo. Un registrador de cambio controlado por un ordenador cierra secuencialmente cada interruptor de forma momentánea, lo que hace que cada condensador se cargue a -5 V . La radiación que incide sobre la superficie de algún diodo da lugar a una descarga parcial de su condensador. Esta pérdida de carga se reemplaza durante el siguiente ciclo. La corriente de carga resultante, que es proporcional a la potencia de la radiación, se amplifica, digitaliza y almacena en la memoria del ordenador. El ciclo completo se realiza en pocos milisegundos.

En los instrumentos de diodos en serie, la anchura de la rendija del monocromador suele ser idéntica a la anchura de uno de los diodos de silicio. Así, la señal de salida de cada diodo corresponde a la radiación de una longitud de onda diferente y el espectro se obtiene barriendo estas señales de salida secuencialmente. Como el proceso de barrido electrónico es notablemente rápido, los datos de un espectro completo se acumulan en 1 s o incluso menos.

Un instrumento de red de diodos es una herramienta poderosa para estudios de productos intermedios en reacciones moderadamente rápidas, para estudios cinéticos, y para las determinaciones

cualitativas y cuantitativas de los componentes que eluyen de una columna de cromatografía de líquidos o de una columna de electroforesis capilar. El inconveniente de este tipo de instrumentos es su resolución, algo limitada (generalmente de 1 a 2 nm) y su precio, moderadamente alto.

13D-3. Algunos instrumentos característicos

En las secciones siguientes se describen algunos fotómetros y espectrofotómetros característicos. La elección que aquí se ha hecho entre la veintena de modelos comercialmente disponibles no se ha basado en la calidad de funcionamiento ni en el precio, sino más bien con el objetivo de mostrar la gran variedad de diseños que existen.

Fotómetros

Los fotómetros constituyen una herramienta sencilla y relativamente barata para realizar análisis por absorción. Los fotómetros de filtros son, a menudo, más convenientes, robustos y fáciles de mantener y utilizar que los espectrofotómetros más sofisticados. Además, es característico de los fotómetros su elevado rendimiento energético, y por ello, la buena relación señal/ruido, incluso con detectores y circuitos relativamente sencillos y baratos. Cuando el método no requiere una alta pureza espectral (como sucede con frecuencia) los análisis cuantitativos se pueden realizar con la misma exactitud con un fotómetro que con un instrumento más complejo.

Fotómetros para la región visible. La Figura 13-14 representa el esquema de dos fotómetros. La figura superior ilustra un instrumento de haz sencillo y lectura directa formado por una lámpara de filamento de wolframio, una lente para proporcionar un haz de luz paralelo, un filtro y una célula fotovoltaica. La corriente producida se indica con un microamperímetro en cuya superficie lleva una escala lineal de 0 a 100. La medida del porcentaje T supone un ajuste mecánico o eléctrico de la aguja medidora mientras que el obturador interrumpe el haz incidente. En algunos instrumentos, el ajuste para obtener la respuesta correspondiente a la escala completa (100 por 100 T) cuando se sitúa al disolvente en la trayectoria de la luz, necesita cambiar el potencial aplicado a la lámpara. En otros, se modifica el tamaño de apertura de un diafragma situado en la trayectoria de la luz. Como la señal de la célula fotovoltaica es lineal respecto a la potencia de la radiación que recibe, la lectura de la escala, cuando es la muestra la que se encuentra en la trayectoria de la luz, será el porcentaje de transmitancia, es decir, el porcentaje de la escala total. Para obtener directamente el valor de la absorbancia de la disolución se sustituye esta escala por otra logarítmica.

La Figura 13-14b es una representación esquemática de un fotómetro de doble haz, tipo nulo, similar al mostrado en la Figura 13-12b. Aquí, el haz de luz se divide mediante un espejo semiplatado que transmite aproximadamente el 50 por 100 de la radiación que incide sobre él y refleja el otro 50 por 100. Un haz pasa a través de la muestra y de allí se dirige a la célula fotovoltaica; el otro pasa a través del disolvente y se dirige a un detector similar. Las

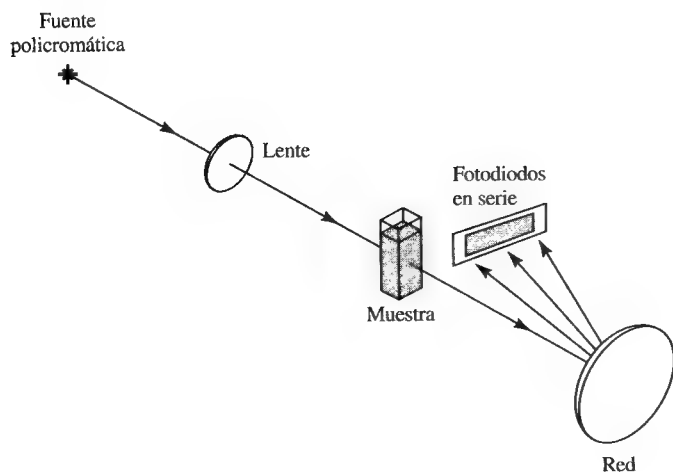


Figura 13-13. Diagrama de un espectrofotómetro multicanal que consta de una red y un detector de diodos en serie.

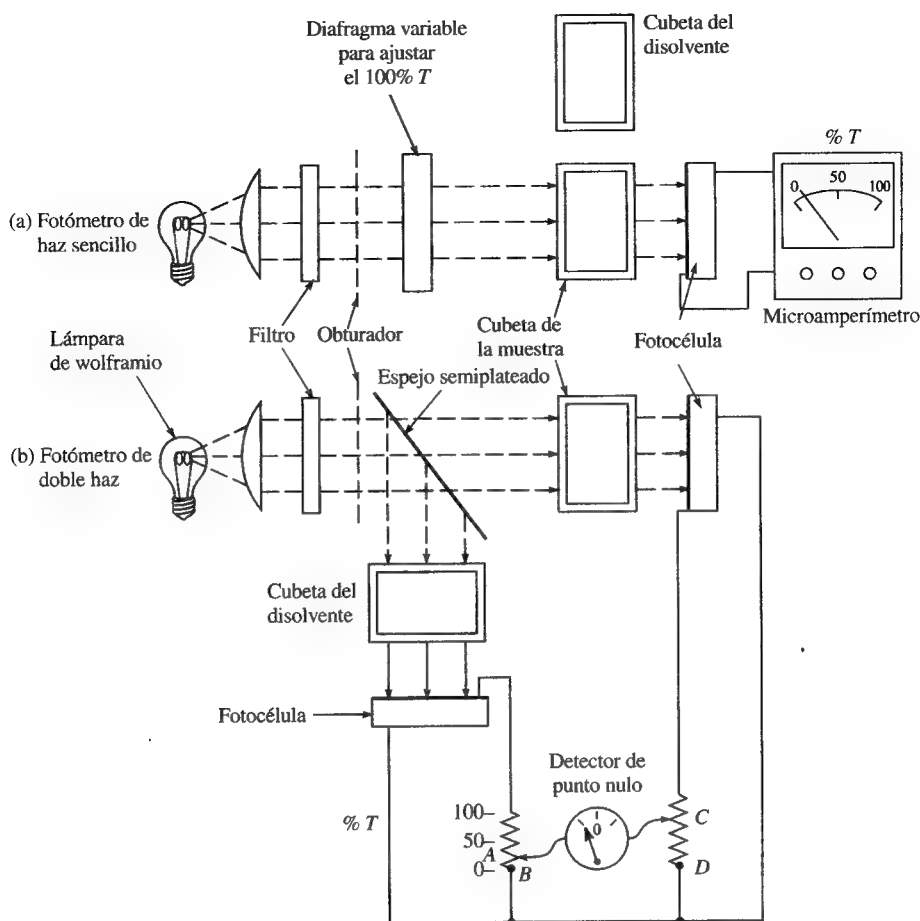


Figura 13-14. Fotómetro de haz sencillo y doble.

señales de salida eléctrica de las células fotovoltaicas pasan a través de resistencias variables, una de ellas está calibrada como una escala de transmitancia en unidades lineales de 0 a 100. Entre las dos resistencias se conecta un medidor de corriente sensible que sirve como detector nulo. Cuando la diferencia de potencial entre AB es igual a aquella entre CD , no pasa corriente a través del detector nulo; bajo cualquier otra circunstancia se indica una corriente. Al principio, el contacto izquierdo se ajusta a 0 por 100 T , el obturador se cierra y el indicador del detector nulo se lleva a cero mecánicamente. En estas condiciones la marca central corresponde a cero de corriente. A continuación se coloca el disolvente en las dos cubetas, y el contacto A se ajusta a 100 (ajuste del 100 por 100 T); con el obturador abierto, se ajusta el contacto C hasta que se obtenga corriente cero. Al reemplazar el disolvente de una de las cubetas por la muestra se

observa un descenso en la potencia radiante que llega a la fotocélula de trabajo y el correspondiente descenso en el potencial de salida; el galvanómetro señala una corriente. La pérdida del equilibrio se compensa moviendo A hacia un valor inferior. Alcanzado de nuevo el equilibrio, el porcentaje de transmitancia se lee directamente en la escala.

Fotómetros tipo sonda. La Figura 13-15 es un esquema de un interesante fotómetro, comercialmente disponible, sumergible, que consta de una fibra óptica para transmitir la luz desde la fuente hasta la capa de disolución que se encuentra entre el vidrio sellado en el extremo de la fibra y el espejo. La radiación reflejada en el espejo pasa por una segunda fibra de vidrio hasta alcanzar el detector, un fotodiodo. El fotómetro utiliza un amplificador con un cortador electrónico que está sincronizado con la fuente luminosa; como resultado, el fotóme-

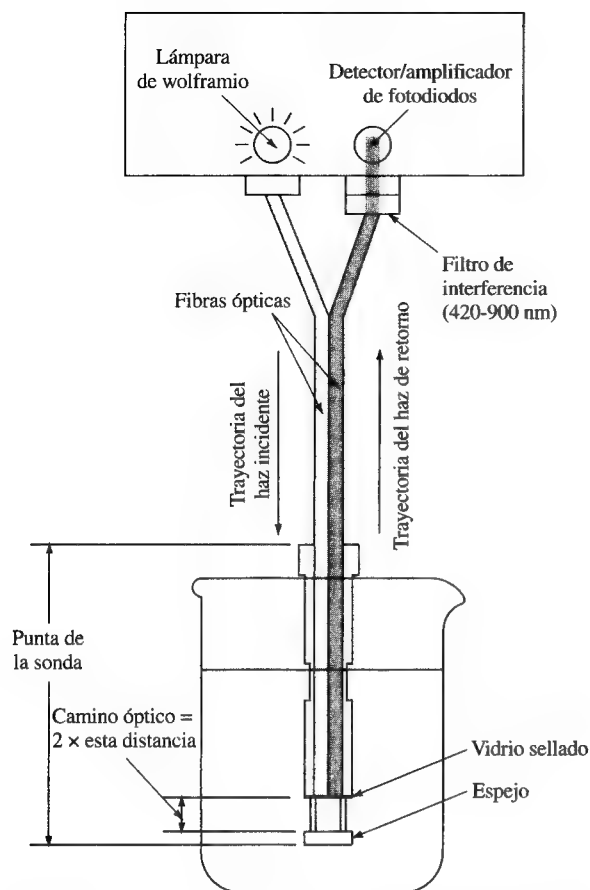


Figura 13-15. Esquema de un fotómetro tipo sonda. (Cortesía de Brinkman Instrument Company, Division of Sybron Corporation, Westbury, NY.)

tro no responde a radiaciones extrañas. Se suministran seis filtros de interferencia que pueden intercambiarse mediante un botón localizado en el panel del instrumento. También se puede disponer de los filtros habituales. Las puntas de la sonda se fabrican de acero inoxidable, Acero Inoxidable Swagelok®, Pyrex® y Plástico Lexan® resistente a los ácidos. Las longitudes de las trayectorias de la luz asequibles oscilan entre 1 mm y 10 cm.

La absorbancia se mide sumergiendo la sonda primero en el disolvente y luego en la disolución a medir. El dispositivo es particularmente útil para las valoraciones fotométricas (Apartado 14E).

Selección del filtro. Los fotómetros se suministran generalmente con varios filtros, cada uno de ellos transmite en diferentes zonas del espectro visible. Es importante seleccionar el filtro apropiado para una determinada aplicación, ya que la sensibi-

lidad de la medida depende directamente de esta elección. El color de la luz absorbida es el complementario del color de la propia disolución. Por ejemplo, un líquido es de color rojo porque transmite la zona roja del espectro pero absorbe la verde. Es la intensidad de la radiación verde la que varía con la concentración; por ello, debería emplearse un filtro verde. Entonces, el filtro más apropiado para el análisis fotométrico será, en general, del color complementario al color de la disolución a analizar. Si se dispone de varios filtros que poseen el mismo tinte general, debe utilizarse aquél con el que la muestra presenta mayor absorbancia (o menor transmitancia).

Fotómetros de absorción ultravioleta

Los fotómetros ultravioleta sirven, con frecuencia, como detectores en cromatografía líquida de alta eficacia. Para esta aplicación, la fuente que normalmente se utiliza es la lámpara de vapor de mercurio, y la línea de emisión a 254 nm se aísla mediante filtros. Este tipo de detector se describe brevemente en el Apartado 28C-6.

También se dispone de fotómetros ultravioleta para el control en continuo de la concentración de uno o más componentes de una corriente de gas o de líquido, en las plantas industriales. Los instrumentos son de doble haz espacial y suelen utilizar una de las líneas de emisión del mercurio, que se ha aislado mediante un sistema de filtros. Entre las aplicaciones características se incluyen la determinación de bajas concentraciones de fenol en aguas residuales, el control de cloro, mercurio e hidrocarburos aromáticos en gases y la determinación de la relación entre el sulfuro de hidrógeno y el dióxido de azufre en la atmósfera.

Espectrofotómetros

Son numerosos los espectrofotómetros comercialmente disponibles. Algunos se han diseñado sólo para la región visible; otros se pueden utilizar en las regiones ultravioleta y visible. Otros, son capaces de medir desde la región ultravioleta hasta la del infrarrojo cercano (de 185 a 3.000 nm).

Instrumentos para la región visible. Existen en el mercado varios espectrofotómetros diseñados para trabajar en el intervalo de longitudes de onda de aproximadamente 380 a 800 nm. Estos instrumentos son, con frecuencia, sencillos, de un solo haz, relativamente baratos (desde menos de 1.000

dólares hasta quizás 3.000 dólares), robustos y fácilmente transportables. Al menos uno funciona con batería y es lo suficientemente ligero y pequeño para ser portátil. La aplicación más común de estos instrumentos es el análisis cuantitativo, aunque algunos de ellos proporcionan también, sorprendentemente, buenos espectros de absorción.

La Figura 13-16 muestra el funcionamiento de un espectrofotómetro sencillo y barato, el Spectronic 20. La versión original de este instrumento apareció en el mercado a mediados de los años cincuenta, y la versión modificada, que se muestra en la figura, todavía se fabrica y se vende mucho. Sin duda, en la actualidad hay más instrumentos de éstos por todas partes del mundo que de cualquier otro modelo de espectrofotómetro. La popularidad de este instrumento se debe, particularmente como herramienta para la enseñanza, a su relativo bajo precio, su robustez y sus satisfactorias características de funcionamiento.

El Spectronic 20 consta de una fuente luminosa de filamento de wolframio, que trabaja mediante una fuente de alimentación estabilizada y que proporciona radiación de intensidad constante. Después de la difracción en una red de reflexión sencilla, la radiación atraviesa la cubeta de la muestra o de la referencia y llega al fototubo. La señal eléctrica amplificada en el detector acciona un dispositivo de medida con una escala de 14 cm graduada en unidades de transmitancia y absorbancia.

El instrumento está equipado con un obturador que consiste en un aspa que se interpone automáticamente entre el haz y el detector siempre que se retira la cubeta del portacubetas; en estas condiciones se puede hacer el ajuste del 0 por 100 T . Como se muestra en la Figura 13-17 en el Spectronic 20, el dispositivo de control de luz consiste en una muesca con forma de V que puede moverse hacia

el interior del haz o hacia fuera del mismo y de ese modo ajustar el medidor al 100 por 100 T .

El intervalo de longitudes de onda que abarca el Spectronic 20 está comprendido entre 340 y 625 nm; un fototubo adicional aumenta este intervalo hasta 950 nm. Otras características técnicas del instrumento incluyen una anchura de banda de 20 nm y una exactitud en la longitud de onda de $\pm 2,5$ nm. El Spectronic 20 se ha modernizado recientemente como Spectronic 20+; el nuevo instrumento utiliza un detector de estado sólido, además de otras mejoras.

Instrumentos de haz sencillo para la región ultravioleta/visible. Varios fabricantes ofrecen instrumentos de haz sencillo sin registrador que pueden utilizarse para medidas en la región ultravioleta y visible. El extremo inferior de longitudes de onda de estos instrumentos varía de 190 a 210 nm y el superior de 800 a 1.000 nm. Todos ellos están equipados con lámparas de wolframio y de hidrógeno o deuterio intercambiables. La mayoría utilizan tubos fotomultiplicadores como detectores y redes como elementos dispersantes. Algunos están provistos de dispositivos de salida digitales; otros utilizan medidores de gran tamaño. Los precios de estos instrumentos oscilan entre 2.000 y 8.000 dólares.

Como cabría esperar, las características técnicas de trabajo varían considerablemente de unos instrumentos a otros y guardan relación, al menos en algún grado, con el precio del mismo. Las anchuras de banda suelen variar de 2 a 8 nm; se han descrito exactitudes en la longitud de onda de $\pm 0,5$ a ± 2 nm.

Los diseños ópticos de diversos instrumentos con monocromador de red no difieren mucho de los que se muestran en las Figuras 13-12a y 13-16. Sin embargo, hay un fabricante que utiliza una red

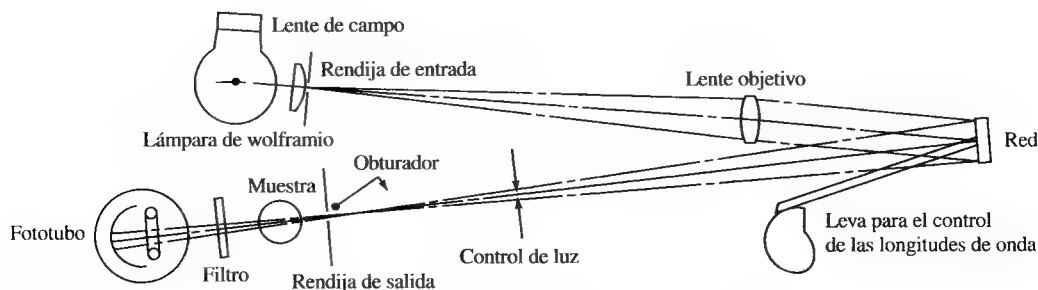


Figura 13-16. El espectrofotómetro «Spectronic 20»: diagrama de su sistema óptico.

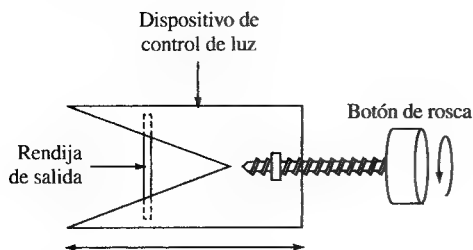


Figura 13-17. Vista del extremo de la rendija de salida del espectrofotómetro Spectronic 20 representado en la Figura 13-16.

cóncava en lugar de una plana resultando un diseño más sencillo y compacto. También están empezando a aparecer en el mercado los instrumentos equipados con redes holográficas (Apartado 7C-2).

Espectrofotómetros de haz sencillo computarizados. Actualmente existe un fabricante que ofrece una línea de espectrofotómetros de haz sencillo, con registrador y controlados por ordenador que trabajan en el intervalo de 190 a 800 nm (o hasta 900 nm con un accesorio)¹¹. Con estos instrumentos se realiza primero un barrido de longitudes de onda con la disolución de referencia en la trayectoria del haz. La señal de salida del detector se digitaliza en tiempo real y se almacena en la memoria del ordenador. Después se realiza el barrido con la muestra y se calcula la absorbancia

con la ayuda de los datos de la disolución de referencia almacenados. El espectro completo se visualiza sobre un tubo de rayos catódicos en 2 s después de la adquisición de datos. Son factibles velocidades de barrido tan altas como 1.200 nm/min. El ordenador asociado al instrumento está provisto de varias opciones relacionadas con el procesamiento de los datos y la presentación de los mismos como logaritmo de la absorbancia, transmitancia, derivadas, espectros superpuestos, barridos repetitivos, cálculo de concentraciones, localización de picos, determinación de alturas y medidas cinéticas.

Como ya se ha indicado, los instrumentos de haz sencillo tienen las ventajas inherentes de un mayor rendimiento energético, relaciones señal/ruido superiores y compartimentos de muestra menos llenos. Por otra parte, el proceso de registrar las señales de salida del detector para las disoluciones de referencia y de la muestra sucesivamente para los posteriores cálculos de absorbancia y transmitancia no ha sido, hasta ahora, muy satisfactoria debido a la deriva o ruido de parpadeo en las fuentes y detectores. El fabricante de estos nuevos instrumentos de haz sencillo afirma haber eliminado estas inestabilidades por medio, fundamentalmente, de un nuevo diseño de fuente y un nuevo diseño electrónico que elimina los efectos de histéresis o de memoria en el fotodetector.

Las exactitudes fotométricas de los nuevos instrumentos que se han descrito son de $\pm 0.005 A$ o $\pm 0,3$ por 100 T con una deriva menor de 0,002 A/h . Mediante el intercambio manual de rendijas fijas

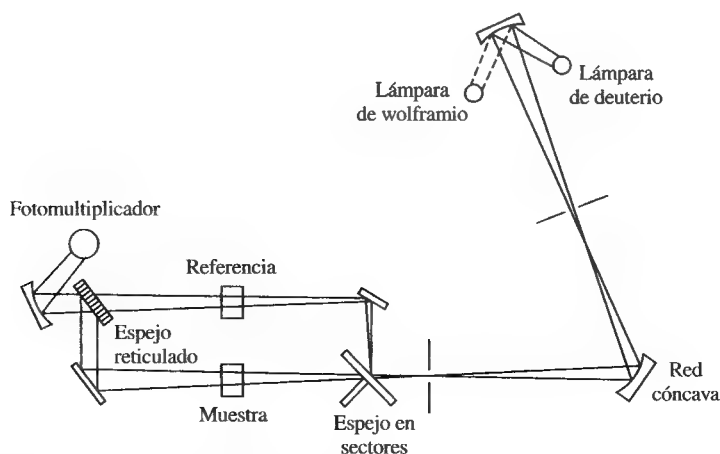


Figura 13-18. Esquema de un espectrofotómetro de haz doble manual, característico, para la región ultravioleta/visible.

¹¹ W. Kaye, D. Barber, y R. Marasco, *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 437A; V. A. Kohler y N. Brenner, *Amer. Lab.*, **1981**, 13 (9), 109.

se puede disponer de anchuras de bandas de 0,5; 1 y 2 nm.

Instrumentos de doble haz. Actualmente se puede disponer de numerosos espectrofotómetros de doble haz para la región ultravioleta/visible. Generalmente, estos instrumentos son más caros que los de haz sencillo, la modalidad sin registrador puede costar de 4.000 a 15.000 dólares.

La Figura 13-18 muestra los detalles de construcción de un espectrofotómetro ultravioleta/visible de doble haz característico, manual y relativamente barato. En este instrumento la radiación se dispersa en una red cóncava que enfoca al haz sobre un espejo en sectores rotatorio. El diseño del instrumento es similar al mostrado en la Figura 13-12c.

El instrumento presenta un intervalo de longitudes de onda de 195 a 850 nm, una anchura de banda de 4 nm, una exactitud fotométrica del 0,5 por 100 T y una reproducibilidad del 0,2 por 100 A ; la radiación parásita es menor del 0,1 por 100 de P_0 a 240 y 340 nm. Diversas compañías ofrecen varios instrumentos similares a éste. Tales instru-

mentos son muy adecuados para trabajos cuantitativos donde, generalmente, no es necesario obtener el espectro completo.

La Figura 13-19 muestra la óptica de un espectrofotómetro más sofisticado, con registrador, de doble canal (en tiempo), que consta de una red plana de 45×45 mm con 1.440 líneas/mm. Su intervalo de longitudes de onda va de 190 a 750 nm con la opción de extender este intervalo hasta 900 nm. Se pueden elegir anchuras de banda de 0,2; 0,5; 1,0 y 3,0 nm cambiando las rendijas. El instrumento tiene una exactitud fotométrica de $\pm 0,003 A$; su radiación parásita es menor de 0,1 por 100 de P_0 a 220 y 340 nm. El funcionamiento de este instrumento es significativamente mejor que el del instrumento de doble haz descrito previamente, su precio es, como corresponde, más elevado.

Instrumentos de doble dispersión. Para mejorar la resolución espectral y conseguir una marcada reducción de la radiación parásita se han diseñado una serie de instrumentos con dos redes o prismas colocados en serie con una rendija entre ellos, por

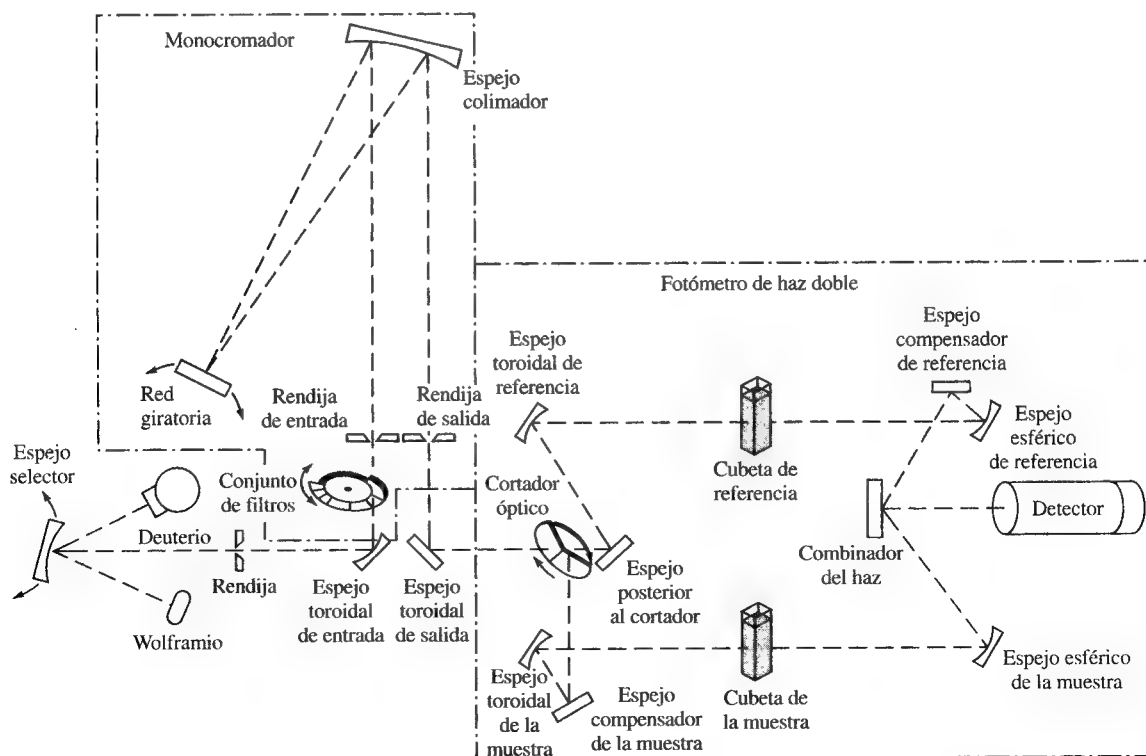


Figura 13-19. Espectrofotómetro de haz doble con registrador para las regiones ultravioleta y visible; Perkin-Elmer Serie 57. (Cortesía de Coleman Instruments Division, Oak Brook, IL.)

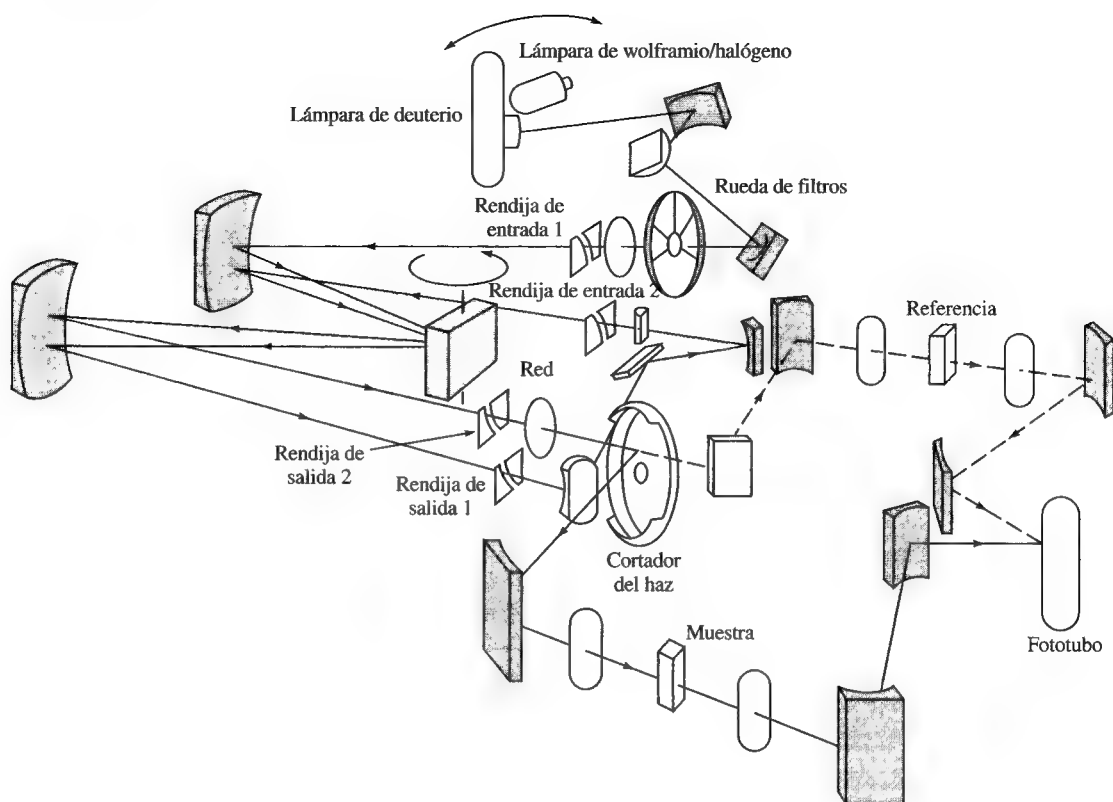


Figura 13-20. Espectrofotómetro de doble dispersión. (Cortesía de Varian Instrument Division, Palo Alto, CA.)

lo que, en realidad, estos instrumentos constan de dos monocromadores configurados en serie.

El instrumento que se muestra en la Figura 13-20 consigue las mismas características de trabajo con una sola red. Obsérvese que la radiación atraviesa la rendija de entrada 1, se dispersa en la red, atraviesa la rendija de salida 1 y va hacia la rendija de entrada 2. Después de sufrir una segunda dispersión en la red, el haz emerge por la rendija de salida 2 donde se divide en dos haces, uno atraviesa la muestra y el otro la disolución de referencia. La resolución de este instrumento es de 0,07 nm y la luz parásita el 0,0008 por 100 de P_0 de 220 a 800 nm. El intervalo de longitudes de onda es de 185 a 3.125 nm. Para longitudes de onda mayores de 800 nm, se utiliza un detector de fotoconductividad de sulfuro de plomo con la lámpara de wolframio.

Instrumentos de diodos en serie. A mediados de los años setenta aparecieron una gran cantidad de artículos y revisiones científicas describiendo las aplicaciones de las series de diodos de silicio (Apartado 7E-3) como detectores para medidas es-

pectroquímicas¹². Con estos dispositivos situados en el plano focal del monocromador, se puede obtener un espectro mediante un barrido electrónico en lugar de mecánico; todos los datos puntuales necesarios para definir un espectro se pueden recoger simultáneamente. El concepto de los instrumentos multicanal es atractivo por la velocidad potencial a la que se pueden obtener los espectros, así como por su aplicabilidad para las determinaciones simultáneas de multicomponentes. Fue en 1980, aproximadamente, cuando se pudo disponer comercialmente del primer espectrofotómetro multicanal electrónico especialmente diseñado para medidas de absorción en el intervalo ultravioleta/visible¹³. Actualmente, varias compañías de instrumentación ofertan estos instrumentos.

¹² Y. Talmi, *Appl. Spectrosc.*, **1982**, 36, 1; Y. Talmi, *Anal. Chem.*, **1975**, 47, 658A, 697A; Y. Talmi, *Multichannel Image Detectors*, Vol. 1, 1979; Vol. 2, 1983. Washington, DC: American Chemical Society; G. Horlick y E. G. Coddling, *Contemp. Top. Anal. Clin. Chem.*, **1977**, 1, 195.

¹³ J. C. Milner, S. A. George, y B. G. Willis, *Science*, **1982**, 218, 241.

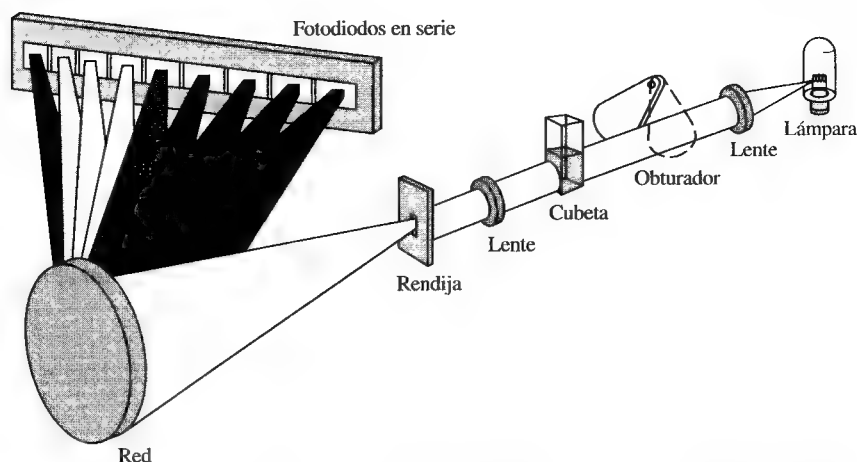


Figura 13-21. Espectrofotómetro multicanal de diodos en serie, el HP 8452A. (Cortesía de Hewlett-Packard Company, Palo Alto, CA.)

La Figura 13-21 muestra el diagrama óptico de un espectrofotómetro ultravioleta/visible multicanal característico. Debido a sus pocos componentes ópticos, el total de la radiación es mucho mayor que la de los espectrofotómetros tradicionales. Como resultado, una única lámpara de deuterio puede servir como fuente, no sólo para la región ultravioleta sino también para la visible (hasta 820 nm). Después de atravesar la disolución de disolvente o de analito, la radiación se enfoca sobre la rendija de entrada y después pasa a la superficie de una red de reflexión holográfica. El detector es una serie de diodos formado por 328 elementos, cada uno tiene unas dimensiones de 18 por 0,5 mm. La dispersión de la red y el tamaño de cada diodo son tales que se consigue una resolución de 2 nm a lo largo de toda la región espectral. Como el sistema no contiene partes en movimiento, la reproducibilidad en la longitud de onda de un barrido a

otro es excelentemente alta y la señal promedio puede utilizarse para lograr un considerable incremento en la relación señal/ruido.

Un único barrido de 200 a 820 nm con este instrumento necesita 0,1 s. Sin embargo, para mejorar la relación señal/ruido, el barrido espectral se realiza, generalmente, en un segundo o algo más, acumulando los datos en la memoria del ordenador. Con tiempos de exposición tan cortos, se minimiza la fotodescomposición de la muestra, a pesar de situarla entre la fuente y el monocromador. La estabilidad de la fuente y el sistema electrónico es tal que sólo es necesario observar y almacenar la señal del disolvente cada cinco o diez minutos.

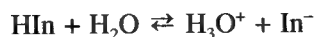
El espectrofotómetro que se muestra en la Figura 13-21 está diseñado para poder acoplarse a la mayoría de los sistemas de ordenadores personales. El instrumento (sin el ordenador) se vende a precios que oscilan entre 7.000 y 9.000 dólares.

13E. CUESTIONES Y PROBLEMAS

13-1. Expresar las siguientes absorbancias en términos de porcentaje de transmitancia:

- (a) 0,0510
- (b) 0,918
- (c) 0,379
- (d) 0,261
- (e) 0,485
- (f) 0,072

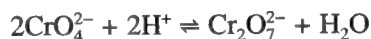
- 13-2.** Convertir los siguientes datos de transmitancia en absorbancias:
- (a) 25,5 %
 - (b) 0,567
 - (c) 32,8 %
 - (d) 3,58 %
 - (e) 0,085
 - (f) 53,8 %
- 13-3.** Calcular el porcentaje de transmitancia de las disoluciones cuyas absorbancias son el doble de las del Problema 13-1.
- 13-4.** Calcular la absorbancia de las disoluciones cuyos porcentajes de transmitancia son la mitad de los del Problema 13-2.
- 13-5.** Una disolución que contiene 4,48 ppm de KMnO_4 presenta una transmitancia de 0,309 en una cubeta de 1,00 cm a 520 nm. Calcular la absorptividad molar del KMnO_4 .
- 13-6.** Una disolución que contine 3,75 mg/100 mL de A (220 g/mol) presenta una transmitancia de 39,6 por 100 en una cubeta de 1,5 cm a 480 nm. Calcular la absorptividad molar de A.
- 13-7.** Una disolución del complejo formado por Bi(III) y tiourea tiene una absorptividad molar a 470 nm de $9,32 \times 10^3 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$.
- (a) ¿Cuál será la absorbancia de una disolución $6,24 \times 10^{-5} \text{ M}$ de este complejo si se mide en una cubeta de 1,00 cm?
 - (b) ¿Cuál será el porcentaje de transmitancia de la disolución descrita en (a)?
 - (c) ¿Cuál será la concentración molar del complejo en una disolución que presenta la absorbancia descrita en (a) cuando se mide a 470 nm en una cubeta de 5,00 cm?
- 13-8.** El complejo FeSCN^{2+} , cuya longitud de onda de máxima absorción es 580 nm, tiene una absorptividad molar de $7,00 \times 10^3 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$. Calcular:
- (a) La absorbancia a 580 nm de una disolución del complejo $2,50 \times 10^{-5} \text{ M}$, si se mide en una cubeta de 1,00 cm.
 - (b) La absorbancia de una disolución del complejo cuya concentración es el doble de la del Apartado (a).
 - (c) La transmitancia de las disoluciones descritas en los Apartados (a) y (b).
 - (d) La absorbancia de una solución cuya transmitancia es la mitad de la descrita en el Apartado (a).
- 13-9.** Una alícuota de 2,50 mL de una disolución que contiene 3,8 ppm de Fe(III) se trata con exceso de KSCN y se diluye hasta 50,0 mL. ¿Cuál es la absorbancia de la disolución resultante a 580 nm si se mide en una cubeta de 2,5 cm? Véase el Problema 13-8 para los datos de absorptividad.
- 13-10.** El Zn(II) y el ligando L forman un producto que absorbe fuertemente a 600 nm. Cuando la concentración molar de L supera a la del Zn(II) en un factor de 5, la absorbancia depende sólo de la concentración del catión. Ni el Zn(II) ni L absorben a 600 nm. Una disolución compuesta por $1,60 \times 10^{-4} \text{ M}$ de Zn(II) y $1,00 \times 10^{-3} \text{ M}$ de L presenta una absorbancia de 0,464 en una cubeta de 1,00 cm a 600 nm. Calcular:
- (a) El porcentaje de transmitancia de esta disolución.
 - (b) El porcentaje de transmitancia de esta disolución medida en una cubeta de 2,5 cm.
 - (c) La absorptividad molar del complejo.

13-11. La constante de equilibrio del par ácido/base conjugado

es $8,00 \times 10^{-5}$. A partir de la siguiente información

Especie	Máximo de absorción, nm	Absortividad molar	
		430 nm	600 nm
HIn	430	$8,04 \times 10^3$	$1,23 \times 10^3$
In ⁻	600	$0,775 \times 10^3$	$6,96 \times 10^3$

- (a) Calcular la absorbancia a 430 nm y a 600 nm de las disoluciones de indicador con las siguientes concentraciones: $3,00 \times 10^{-4}$ M; $2,00 \times 10^{-4}$ M; $1,00 \times 10^{-4}$ M; $0,500 \times 10^{-4}$ M y $0,250 \times 10^{-4}$ M.
- (b) Representar gráficamente la absorbancia como función de la concentración de indicador.

13-12. La constante de equilibrio de la reacción

es $4,1 \times 10^{14}$. Las absortividades molares de las especies principales de una disolución de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ son

λ	$\epsilon_1(\text{CrO}_4^{2-})$	$\epsilon_2(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-})$
345	$1,84 \times 10^3$	$10,7 \times 10^2$
370	$4,81 \times 10^3$	$7,28 \times 10^2$
400	$1,88 \times 10^3$	$1,89 \times 10^2$

Se prepararon cuatro disoluciones disolviendo $4,00 \times 10^{-4}$; $3,00 \times 10^{-4}$; $2,00 \times 10^{-4}$ y $1,00 \times 10^{-4}$ moles de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ en agua y diluyendo hasta 1,00 L con una disolución tampón de pH 5,60. Deducir los valores de absorbancia teóricos (cubetas de 1,00 cm) para cada disolución y representar gráficamente los datos para (a) 345 nm; (b) 370 nm; (c) 400 nm.

13-13. Describir las diferencias entre los siguientes términos y enumerar alguna de las ventajas particulares que posee uno sobre el otro

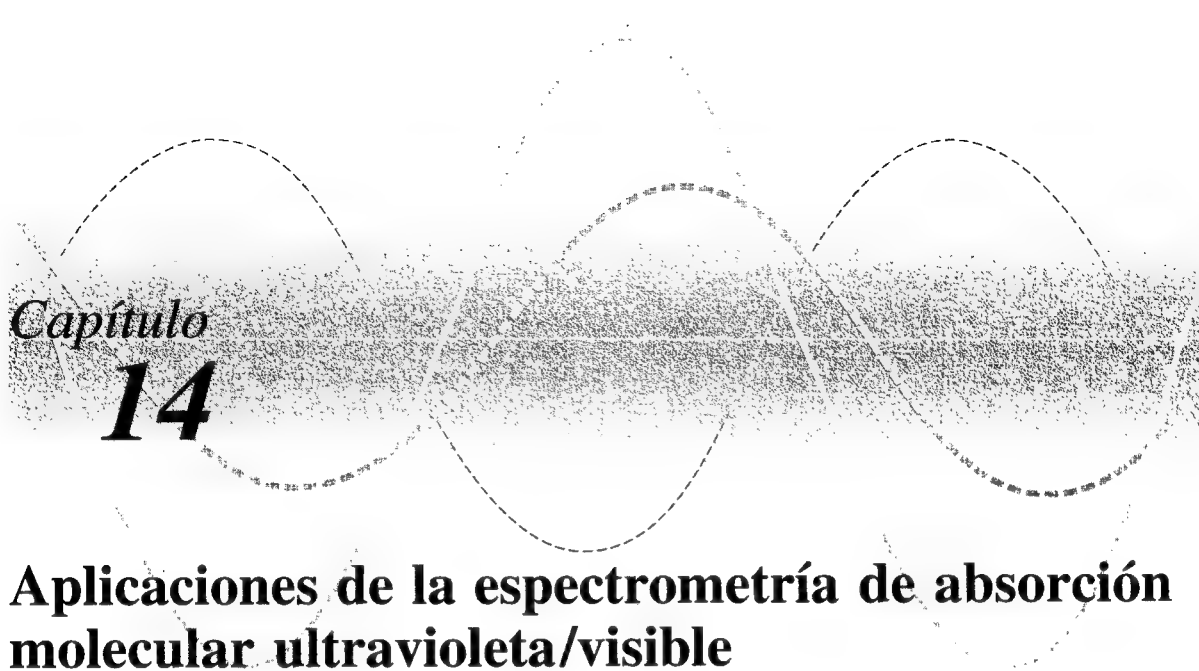
- (a) Lámparas de descarga de hidrógeno y de deuterio, como fuentes de radiación ultravioleta.
- (b) Filtros y monocromadores, como selectores de longitud de onda.
- (c) Células fotovoltaicas y fototubos como detectores de radiación electromagnética.
- (d) Fototubos y fotomultiplicadores.
- (e) Fotómetros y colorímetros.
- (f) Espectrofotómetros y fotómetros.
- (g) Instrumentos para medidas de absorbancia de haz sencillo y de doble haz.
- (h) Espectrofotómetros convencionales y de diodos en serie.

13-14. Un fotómetro portátil cuya respuesta es proporcional a la radiación registró 73,6 μA cuando en la trayectoria del haz se encontraba una disolución en blanco. Al reemplazar el blanco por una disolu-

ción absorbente se produjo una respuesta de $24,9 \mu\text{A}$. Calcular:

- (a) El porcentaje de transmitancia de la muestra.
 - (b) La absorbancia de la muestra.
 - (c) La transmitancia esperada para una disolución con una concentración de absorbente igual a la tercera parte de la concentración de la muestra original.
 - (d) La transmitancia esperada para una disolución con el doble de concentración que la muestra.
- 13-15. Un fotómetro con respuesta proporcional a la radiación dio una lectura de 685 mV con el blanco en la trayectoria del haz y 179 mV cuando el blanco se reemplazó por una disolución absorbente. Calcular:
- (a) El porcentaje de transmitancia y la absorbancia de la disolución absorbente.
 - (b) La transmitancia esperada si la concentración de absorbente fuera la mitad de la que presenta la disolución original.
 - (c) La transmitancia esperada si el espesor de la cubeta que contiene la disolución original fuera el doble.
- 13-16. ¿Por qué una lámpara de deuterio produce un espectro continuo y no un espectro de líneas en la región ultravioleta?
- 13-17. ¿Cuáles son las diferencias entre un detector de fotones y un detector térmico?
- 13-18. ¿Cómo es la energía de la radiación medida en el infrarrojo?
- 13-19. ¿Por qué no se pueden utilizar fotomultiplicadores para detectar radiación en el infrarrojo?
- 13-20. ¿Por qué a veces se introduce yodo en las lámparas de wolframio?
- 13-21. Describir en qué difieren un fotómetro de absorción y un fotómetro de fluorescencia.
- 13-22. Describir la diferencia de diseño básica entre un espectrómetro para medidas de absorción y uno para estudios de emisión.
- 13-23. ¿Qué datos son necesarios para describir las características de trabajo de un filtro de interferencia?
- 13-24. Definir
- (a) Corriente oscura.
 - (b) Detector.
 - (c) Radiación dispersada (en el monocromador).
 - (d) Semiconductor tipo n .
 - (e) Portador mayoritario.
 - (f) Capa de despoblación.
- 13-25. Un filtro de interferencia se construye para aislar la banda de absorción del CS_2 a $4,54 \mu\text{m}$.
- (a) Si la determinación se va a realizar empleando la interferencia de primer orden, ¿qué espesor debería tener la capa de dieléctrico (índice de refracción 1,34)?
 - (b) ¿Qué otras longitudes de onda se transmitirán?
- 13-26. Definir el término *anchura de banda efectiva de un filtro*.
- 13-27. ¿Cuántas líneas por milímetro debe presentar una red si la línea de primer orden de difracción a 500 nm se observa con un ángulo de reflexión de 10 grados cuando el ángulo de incidencia es de 60 grados?

- 13-28.** Una red de infrarrojo tiene 72,0 líneas/mm. Calcular las longitudes de onda de los espectros del primero y segundo orden de difracción a los ángulos de reflexión de (a) 0 grados y (b) + 15 grados. Asumir que el ángulo de incidencia es 50 grados.
- 13-29.** Describir en qué se diferencian un espectroscopio, un espectrógrafo y un espectrofotómetro.
- 13-30.** ¿Por qué los análisis cuantitativos y cualitativos necesitan, a menudo, diferentes anchuras de rendija del monocromador?



Capítulo 14

Aplicaciones de la espectrometría de absorción molecular ultravioleta/visible

Las medidas de absorción de radiación ultravioleta y visible tienen una gran aplicación en la identificación y determinación de una enorme cantidad de especies inorgánicas y orgánicas¹. Es probable que los métodos de absorción molecular ultravioleta/visible sean los más utilizados de entre todas las técnicas de análisis cuantitativo en los laboratorios químicos y clínicos a lo largo del mundo.

¹ Algunas referencias útiles en métodos de absorción incluyen: E. J. Meehan, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.^a ed., P. J. Elving, E. J. Meehan e I. M. Kolthoff, Eds., Parte 1, Vol. 7, Capítulos 1-3. New York: Wiley, 1981; R. P. Bauman, *Absorption Spectroscopy*. New York: Wiley, 1962; F. Grum, en *Physical Methods of Chemistry*, A. Weissberger y B. W. Rossiter, Eds., Vol. 1, Parte III B, Capítulo 3. New York: Wiley-Interscience, 1972; H. H. Jaffé y M. Orchin, *Theory and Applications of Ultraviolet Spectroscopy*. New York: Wiley, 1962; G. F. Lothian, *Absorption Spectrophotometry*, 3.^a ed. London: Adam Hilger Ltd., 1969; J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, Capítulo 13. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1988.

14A. LA MAGNITUD DE LAS ABSORTIVIDADES MOLARES

Empíricamente, en espectrometría de absorción molecular ultravioleta y visible se observan absorptividades molares que van desde cero hasta un máximo del orden de 10^5 . Para un pico particular, la magnitud de ϵ depende de la sección transversal de captura (página 324) de las especies y de la probabilidad de que tenga lugar una transición al absorber energía. Se ha demostrado que la relación entre ϵ y estas variables es

$$\epsilon = 8,7 \times 10^{19} PA$$

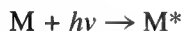
donde P es la probabilidad de la transición y A el área de la sección transversal de la molécula en centímetros cuadrados². A partir de estudios de difracción de electrones y de rayos X se ha estimado que el área para las moléculas orgánicas típicas es aproximadamente de 10^{-15} cm^2 , mientras que las probabilidades de la transición varían de cero a uno. Para las transiciones permitidas según la mecánica cuántica que dan lugar a bandas de absorción intensas ($\epsilon_{\text{máx}} = 10^4$ a 10^5), los valores de P

² E. A. Braude, *J. Chem. Soc.*, 1950, 379.

están comprendidos entre 0,1 y 1. Los picos que tienen absorptividades molares menores de 10^3 se clasifican como de baja intensidad. Son el resultado de las llamadas transiciones prohibidas, que tienen una probabilidad de suceder menor de 0,01.

14B. ESPECIES ABSORBENTES

La absorción de radiación ultravioleta o visible por una especie atómica o molecular M se puede considerar como un proceso de dos etapas, la primera de ellas consiste en una excitación electrónica como se muestra en la ecuación



El producto de la reacción entre M y el fotón $h\nu$ es una especie excitada electrónicamente simbolizada por M^* . El tiempo de vida de la especie excitada es breve (10^{-8} a 10^{-9} s), su existencia se termina por alguno de los distintos procesos de *relajación*. La forma de relajación más común supone la conversión de la energía de excitación en calor; es decir,



La relajación puede ocurrir también por la descomposición de M^* para dar lugar a nuevas especies; dicho proceso se denomina *reacción fotoquímica*. En otros casos la relajación puede suponer la remisión de fluorescencia o fosforescencia. Es importante destacar que el tiempo de vida de M^* es, generalmente, tan pequeño que su concentración en cualquier momento es normalmente despreciable. Además, la cantidad de energía térmica desarrollada en la relajación no es, habitualmente, detectable. Por ello, las medidas de absorción crean una mínima perturbación del sistema en estudio excepto cuando tiene lugar la descomposición fotoquímica.

La absorción de radiación ultravioleta o visible resulta, generalmente, de la excitación de los electrones de enlace; como consecuencia, los picos de absorción pueden correlacionarse con los tipos de enlaces de las especies objeto de estudio. La espectroscopia de absorción molecular es, por tanto, válida para identificar grupos funcionales en una molécula. Más importante, sin embargo, son las aplicaciones de la espectroscopia de absorción ul-

travioleta y visible en la determinación cuantitativa de compuestos que contienen grupos absorbentes.

Para los objetivos de esta discusión, es útil reconocer tres tipos de transiciones electrónicas y clasificar las especies absorbentes sobre esta base. Dichas transiciones incluyen (1) electrones π , σ y n , (2) electrones d y f , (3) electrones de transferencia de carga.

14B-1. Especies absorbentes que contienen electrones π , σ y n

Las especies absorbentes que contienen electrones π , σ y n incluyen iones y moléculas orgánicas, así como algunos aniones inorgánicos. Nuestra discusión tratará especialmente de las primeras, aunque también se hará una breve mención a la absorción por ciertos sistemas inorgánicos.

Todos los compuestos orgánicos son capaces de absorber radiación electromagnética porque todos contienen electrones de valencia que pueden ser excitados a niveles de energía superiores. La energía de excitación asociada con los electrones que constituyen la mayoría de los enlaces sencillos es lo suficientemente alta para que su absorción quede restringida a la región conocida como ultravioleta de vacío ($\lambda < 185$ nm), donde también absorben intensamente los componentes de la atmósfera. Las dificultades experimentales asociadas con el ultravioleta de vacío son significativas; como resultado de ello, la mayoría de las investigaciones espectrofotométricas de compuestos orgánicos se han realizado en la región de longitudes de onda superiores a 185 nm. La absorción de radiación visible y ultravioleta de longitud de onda larga está restringida a un número limitado de grupos funcionales (llamados *cromóforos*) que contienen electrones de valencia con energías de excitación relativamente bajas.

Los espectros electrónicos de moléculas orgánicas que contienen cromóforos son, en general, complejos porque la superposición de las transiciones vibracionales sobre las transiciones electrónicas conduce a una compleja combinación de líneas solapadas; el resultado es una banda de absorción ancha que a menudo parece ser continua. La compleja naturaleza de los espectros hace difícil o imposible el análisis teórico detallado. No obstante, a partir de consideraciones sobre los orbitales moleculares se pueden obtener conclusiones concer-

nientes a este tipo de transiciones electrónicas, responsables de un espectro de absorción dado.

Tipos de electrones absorbentes³

Los electrones que contribuyen a la absorción por una molécula orgánica son: (1) aquellos que participan directamente en la formación del enlace entre átomos y, por tanto, se asocian con más de un átomo; (2) electrones no enlazantes o electrones que no participan en ningún enlace que están en gran parte localizados alrededor de átomos como oxígeno, halógenos, azufre y nitrógeno.

Los enlaces covalentes se forman porque los electrones que constituyen el enlace se mueven en la zona que rodea a los dos centros atómicos de tal forma que minimizan las fuerzas de repulsión de Coulomb entre estos centros. Las zonas no localizadas entre los átomos que están ocupadas por los electrones enlazantes se llaman *orbitales moleculares* y pueden considerarse como el resultado del solapamiento de los orbitales atómicos. Cuando se combinan dos orbitales atómicos se origina un *orbital molecular enlazante* de baja energía y un *orbital molecular antienlazante* de alta energía. Los electrones de la molécula en estado fundamental ocupan el primero.

Los orbitales moleculares asociados con los enlaces sencillos, en las moléculas orgánicas, se designan como *orbitales sigma* (σ), y los electrones correspondientes son electrones σ . Como se muestra en la Figura 14-1, la distribución de la densidad de carga de un orbital sigma es rotacionalmente simétrica alrededor del eje del enlace. Aquí, la densidad de carga negativa promedio que surge del movimiento de los dos electrones alrededor de los dos núcleos positivos se indica por la intensidad del sombreado.

El doble enlace en una molécula orgánica contiene dos tipos de orbitales moleculares: un orbital *sigma* (σ) correspondiente a un par de electrones enlazantes y un *orbital molecular pi* (π) asociado con el otro par. Los *orbitales pi* se forman por el solapamiento paralelo de orbitales *p* atómicos. Su distribución de carga se caracteriza por un *plano*

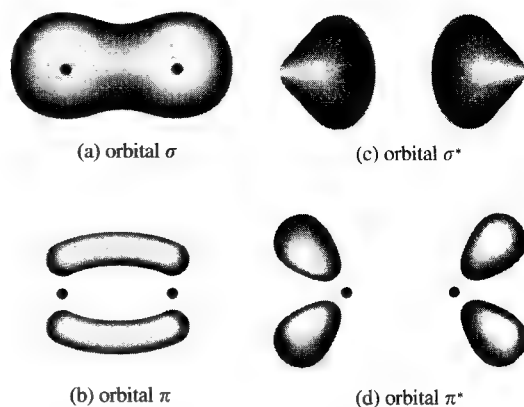


Figura 14-1. Distribución electrónica de los orbitales moleculares sigma y pi.

nodal (una región de baja densidad de carga) a lo largo del eje del enlace y una densidad máxima en las regiones superior e inferior al plano (véase Figura 14-1b).

También se muestran, en las Figuras 14-1c y 14-1d las distribuciones de densidad de carga de los orbitales sigma y pi antienlazantes; estos orbitales se designan por σ^* y π^* .

Además de los electrones σ y π , muchas moléculas orgánicas contienen electrones no enlazantes. Estos electrones, que no participan en ningún enlace, se designan con el símbolo *n*. En la Figura 14-2 se muestra un ejemplo en el que aparecen los tres tipos de electrones.

Como se muestra en la Figura 14-3, la energía para los distintos tipos de orbitales moleculares difiere significativamente. Con bastante frecuencia, el nivel de energía de un electrón no enlazante se encuentra entre niveles de energía de los orbitales π y σ enlazantes y antienlazantes. Las transiciones electrónicas entre los distintos niveles de energía se pueden producir por absorción de radiación. Como se muestra en la Figura 14-3, son posibles cuatro tipos de transiciones: $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \pi^*$, y $\pi \rightarrow \pi^*$.

Transiciones $\sigma \rightarrow \sigma^*$. En este caso, un electrón de un orbital σ enlazante de una molécula se excita



Figura 14-2. Tipos de orbitales moleculares en el formaldehído.

³ Para más detalles, véase H. H. Jaffé y M. Orchin, *Theory and Applications of Ultraviolet Spectroscopy*. New York: Wiley, 1962; C. N. R. Rao, *Ultra-Violet and Visible Spectroscopy: Chemical Applications*, 3.^a ed. London: Butterworths, 1975; R. P. Bauman, *Absorption Spectroscopy*, Capítulos 6 y 8. New York: Wiley, 1962; R. M. Silverstein, G. C. Bassler, y T. C. Merrill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5.^a ed., Capítulo 7. New York: Wiley, 1991.

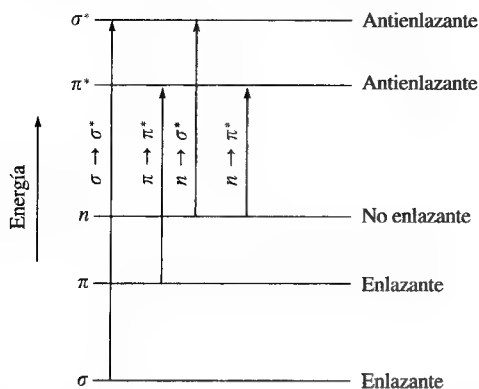


Figura 14-3. Niveles de energía electrónicos de los orbitales moleculares

al correspondiente orbital antienlazante mediante la absorción de radiación. Entonces se dice que la molécula se encuentra en el estado excitado σ, σ^* . Comparando con otras posibles transiciones, la energía requerida para que tenga lugar la transición $\sigma \rightarrow \sigma^*$ es grande (véase la primera flecha en la Figura 14-3), correspondiendo a una frecuencia radiante de la región ultravioleta de vacío. El metano, por ejemplo, que sólo contiene enlaces sencillos C—H y que sólo puede sufrir transiciones $\sigma \rightarrow \sigma^*$ presenta un máximo de absorción a 125 nm. El etano tiene un pico de absorción a 135 nm, que también debe de surgir del mismo tipo de transición, pero aquí los electrones del enlace C—C parecen estar involucrados. Como la fuerza del enlace C—C es menor que la del enlace C—H, se requiere menos energía para la excitación; por ello, el pico de absorción aparece a mayor longitud de onda.

Los máximos de absorción debidos a las transiciones $\sigma \rightarrow \sigma^*$ nunca se observan en la región ultravioleta comúnmente accesible; por esta razón, no se dedicará ninguna discusión adicional para este tipo de absorción.

Transiciones $n \rightarrow \sigma^*$. Los compuestos saturados que contienen pares de electrones no compartidos (electrones no enlazantes) son capaces de sufrir transiciones $n \rightarrow \sigma^*$. En general, estas transiciones requieren menos energía que las del tipo $\sigma \rightarrow \sigma^*$ y se pueden producir por radiación de la región comprendida entre 150 y 250 nm, apareciendo, la mayoría de los picos de absorción, por debajo de 200 nm. La Tabla 14-1 muestra los datos de absorción de algunas transiciones $n \rightarrow \sigma^*$ características. Se puede ver que los requerimientos energéticos para dichas transiciones dependen fundamentalmen-

TABLA 14-1. Algunos ejemplos^a de absorción debidos a transiciones $n \rightarrow \sigma^*$

Compuesto	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$
H ₂ O	167	1.480
CH ₃ OH	184	150
CH ₃ Cl	173	200
CH ₃ I	258	365
(CH ₃) ₂ S ^b	229	140
(CH ₃) ₂ O	184	2.520
CH ₃ NH ₂	215	600
(CH ₃) ₃ N	227	900

^a Muestras en estado vapor.

^b En etanol como disolvente.

te de la clase de enlace, y en menor medida de la estructura de la molécula. Las absorptividades molares asociadas a este tipo de absorción son de magnitud baja e intermedia y normalmente se encuentran entre 100 y 3.000 L cm⁻¹ mol⁻¹.

Los máximos de absorción para las transiciones $n \rightarrow \sigma^*$ tienden a desplazarse hacia longitudes de onda más cortas en presencia de disolventes polares como agua o etanol. El número de grupos funcionales orgánicos con picos $n \rightarrow \sigma^*$ en la región ultravioleta de fácil detección es relativamente pequeño.

Transiciones $n \rightarrow \pi^*$ y $\pi \rightarrow \pi^*$. La mayoría de las aplicaciones de espectroscopia de absorción en compuestos orgánicos se basan en transiciones de los electrones n y π al estado excitado π^* porque la energía requerida para estos procesos produce picos de absorción dentro de una región espectral experimentalmente accesible (200 a 700 nm). Ambas transiciones requieren la presencia de grupos funcionales no saturados que aportan los electrones π . Estrictamente hablando, es a estos centros absorbentes no saturados a los que se les aplica el término de cromóforos.

Las absorptividades molares para los picos asociados con la excitación al estado n, π^* son, generalmente bajas y normalmente se encuentran entre 10 y 100 L cm⁻¹ mol⁻¹; por otra parte, los valores para las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ normalmente oscilan entre 1.000 y 10.000. Otra diferencia característica de los dos tipos de absorción es el efecto que ejerce el disolvente sobre la longitud de onda de los picos. Los picos asociados con transiciones $n \rightarrow \pi^*$ generalmente se desplazan hacia longitudes de onda más cortas (*desplazamiento hipsocrómico* o hacia

el azul), cuando aumenta la polaridad del disolvente. Normalmente, aunque no siempre, se observa la tendencia opuesta en las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ (*desplazamiento batocrómico o hacia el rojo*). El efecto hipsocrómico surge, aparentemente, de una mayor solvatación del par de electrones no enlazantes que disminuye la energía del orbital n . Los efectos de este tipo más drásticos (desplazamiento hacia el azul de 30 nm o más) se observan con disolventes polares próticos, como agua o alcohol, en los cuales es frecuente la formación de enlaces de hidrógeno entre los protones del disolvente y el par de electrones no enlazantes. En este caso, la energía de los orbitales n desciende en una cantidad aproximadamente igual a la energía del enlace de hidrógeno. Sin embargo, cuando tiene lugar una transición $n \rightarrow \pi^*$, el único electrón n que queda no puede mantener el enlace de hidrógeno; así, la energía del estado excitado n, π^* , no se ve afectada por este tipo de interacción con el disolvente. Por tanto, se observa un desplazamiento hacia el azul, que corresponde aproximadamente a la energía del enlace de hidrógeno.

Un segundo efecto del disolvente que indudablemente influye en ambas transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$ lleva a un desplazamiento batocrómico cuando aumenta la polaridad del disolvente. Este efecto es pequeño (normalmente menor de 5 nm) y como resultado, está completamente solapado por el efecto hipsocrómico, ya discutido, en el caso de las transiciones $n \rightarrow \pi^*$. Con el efecto batocrómico, las fuerzas de polarización atractivas entre el disolvente y el absorbente tienden a disminuir los niveles de energía de ambos estados, excitado y no excitado. Sin embargo, el efecto sobre el estado excitado es mayor y, como consecuencia, las diferencias de energía se hacen menores cuando aumenta la polaridad del disolvente; resultando pequeños desplazamientos batocrómicos.

Cromóforos orgánicos

La Tabla 14-2 enumera los cromóforos orgánicos comunes y la localización aproximada de sus máximos de absorción. Estos datos pueden servir sólo como orientación para la identificación de grupos funcionales, porque las posiciones de los máximos se ven afectadas por el disolvente y la estructura de las moléculas que contienen los cromóforos. Además, los picos son normalmente anchos debido a los efectos vibracionales; la determinación precisa de la posición de un máximo es, por tanto, difícil.

Los espectros que aparecen en la Figura 14-4 son típicos de muchos compuestos orgánicos.

Efecto de la conjugación de los cromóforos

En la teoría de los orbitales moleculares, se considera que los electrones π están deslocalizados por conjugación; los orbitales, por tanto, incluyen cuatro (o más) centros atómicos. El efecto de esta deslocalización es el descenso del nivel de energía del orbital π^* , dotándole de menos carácter antienlazante. Como consecuencia, los máximos de absorción se desplazan hacia longitudes de onda más largas.

Como se ve en la Tabla 14-3 la absorción de los multicromóforos en una molécula orgánica sencilla, es aproximadamente aditiva, siempre que los cromóforos estén separados entre sí por más de un enlace sencillo. Sin embargo, la conjugación de cromóforos tiene un profundo efecto sobre las propiedades espectrales. Por ejemplo, en la Tabla 14-3 se ve que el 1,3-butadieno, $\text{CH}_2=\text{CHCH}=\text{CH}_2$, tiene una banda de absorción intensa que se desplaza 20 nm hacia longitudes de onda más largas si se compara con el pico correspondiente a un dieno no conjugado. Cuando los dobles enlaces conjugados son tres, el efecto batocrómico es aún mayor.

La conjugación entre el doble enlace del oxígeno de los aldehídos, cetonas y ácidos carboxílicos y un doble enlace olefínico da lugar a un comportamiento similar (véase Tabla 14-3). También se observan efectos análogos cuando dos grupos carbonilos o carboxilatos están conjugados entre sí. Para los aldehídos y cetonas α, β insaturados, el débil pico de absorción correspondiente a las transiciones $n \rightarrow \pi^*$ se desplaza 40 nm o más hacia longitudes de onda más largas. Además, aparece un pico de absorción intenso correspondiente a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$. Este último pico sólo aparece en la región ultravioleta de vacío si el grupo carbonilo no está conjugado.

Las longitudes de onda de los picos de absorción para los sistemas conjugados son sensibles a la naturaleza de los grupos unidos a los átomos que forman el doble enlace. Se han desarrollado varias reglas empíricas para predecir el efecto de dichos sustituyentes en los máximos de absorción que han demostrado su utilidad para las determinaciones estructurales⁴.

⁴ Para un resumen de estas reglas, véase R. M. Silverstein, G. C. Bassler y T. C. Morrill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5.ª ed., págs. 295-315. New York: Wiley, 1991.

TABLA 14-2. Características de absorción de algunos cromóforos comunes

Cromóforo	Ejemplo	Disolvente	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$	Tipo de transición
Alqueno	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{CH}=\text{CH}_2$	<i>n</i> -Heptano	177	13.000	$\pi \rightarrow \pi^*$
Alquino	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_3$	<i>n</i> -Heptano	178	10.000	$\pi \rightarrow \pi^*$
			196	2.000	—
			225	160	—
Carbonilo	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3\text{CCH}_3 \end{array}$	<i>n</i> -Hexano	186	1.000	$n \rightarrow \sigma^*$
			280	16	$n \rightarrow \pi^*$
Carboxilo	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3\text{CH} \end{array}$	<i>n</i> -Hexano	180	grande	$n \rightarrow \sigma^*$
			293	12	$n \rightarrow \pi^*$
Carboxilo	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3\text{COH} \end{array}$	Etanol	204	41	$n \rightarrow \pi^*$
Amido	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3\text{CNH}_2 \end{array}$	Agua	214	60	$n \rightarrow \pi^*$
Azo	$\text{CH}_3\text{N}=\text{NCH}_3$	Etanol	339	5	$n \rightarrow \pi^*$
Nitro	CH_3NO_2	Isooctano	280	22	$n \rightarrow \pi^*$
Nitroso	$\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$	Etil éter	300	100	—
			665	20	$n \rightarrow \pi^*$
Nitrato	$\text{C}_2\text{H}_5\text{ONO}_2$	Dioxano	270	12	$n \rightarrow \pi^*$

Absorción por sistemas aromáticos

Los espectros ultravioleta de los hidrocarburos aromáticos se caracterizan por tres grupos de bandas cuyo origen son las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$. Por ejemplo, el benceno presenta un pico de absorción intenso a 184 nm ($\epsilon_{\text{máx}} \simeq 60.000$), una banda débil, llamada la banda E_2 , a 204 nm ($\epsilon_{\text{máx}} = 7.900$) y un pico aún más débil, denominado banda B, a 256 nm ($\epsilon_{\text{máx}} = 200$). Las bandas de las longitudes de onda largas del espectro del vapor de benceno, de la 1,2,4,5-tetracina en fase vapor (véase Fig. 14-5a), y de muchos otros compuestos aromáticos contienen una serie de picos agudos que se deben a la superposición de las transiciones vibracionales sobre las transiciones electrónicas básicas. Como se muestra en la Figura 14-5, los disolventes tienden a reducir (o a eliminar, a veces) esta estructura fina como lo hacen ciertos tipos de sustitución.

Las tres bandas características del benceno se ven muy afectadas por la sustitución del anillo; los efectos sobre las bandas de las dos longitudes de onda más largas tienen un interés especial porque pueden estudiarse con un equipo espectrofotométrico común. La Tabla 14-4 ilustra los efectos de algunos sustituyentes del anillo bencénico habituales.

Por definición, un *auxocromo* es un grupo funcional que no absorbe en la región ultravioleta pero que tiene el efecto de desplazar los picos del cromóforo hacia longitudes de onda más largas, así como de incrementar sus intensidades. En la Tabla 14-4 se ve que $-\text{OH}$ y $-\text{NH}_2$ tienen un efecto auxocrómico sobre el cromóforo benceno, particularmente en relación con la banda B. Los sustituyentes auxocrómicos tienen, al menos, un par de electrones n capaces de interactuar con los electrones π del anillo. Esta interacción tiene, aparentemente, el efecto de estabilizar el estado π^* , dismi-

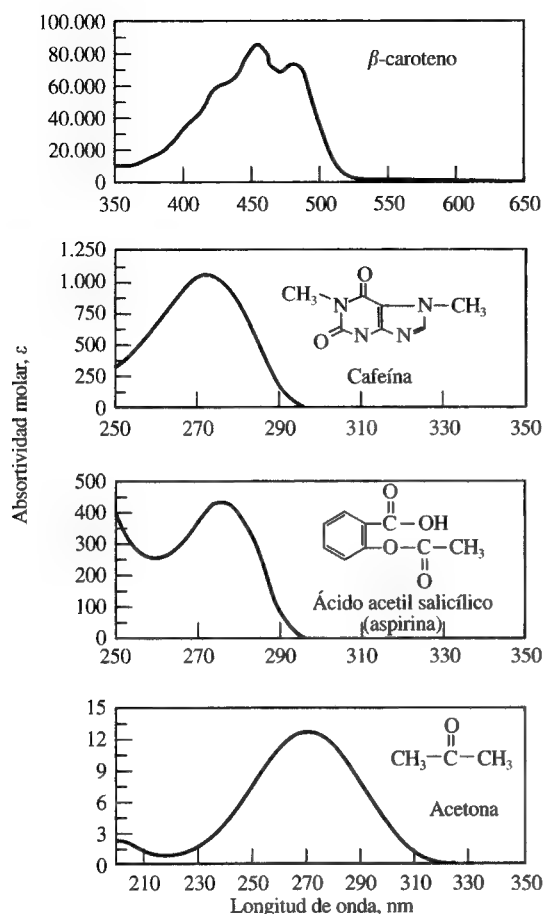


Figura 14-4. Espectros ultravioleta de compuestos orgánicos representativos.

nuyendo, de ese modo, su energía; el resultado es un desplazamiento batocrómico. Obsérvese que el efecto auxocrómico es más pronunciado para el anión fenolato que para el propio fenol, probablemente debido a que el anión tiene un par extra de electrones no compartidos que contribuyen en la interacción. Por otra parte, con la anilina, los electrones no enlazantes se han perdido al formarse el catión anilinio, y, como consecuencia, el efecto auxocrómico desaparece.

Absorción por aniones inorgánicos

Algunos aniones inorgánicos presentan picos de absorción ultravioleta que son consecuencia de las transiciones $n \rightarrow \pi^*$. Como ejemplos se incluyen los iones nitrato (313 nm), carbonato (217 nm), nitrito (360 y 280 nm), azida (230 nm) y tritiocarbonato (500 nm).

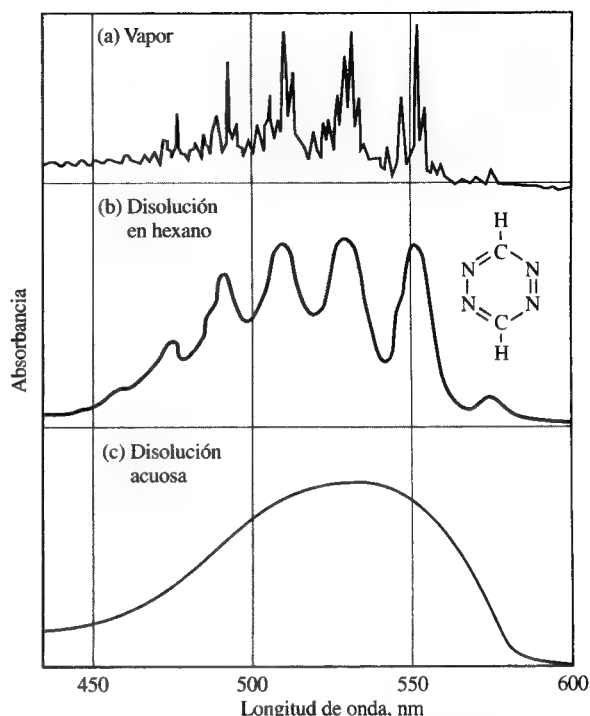


Figura 14-5. Espectros de absorción ultravioleta para la 1,2,4,5-tetrazina (a) vapor, (b) disuelto en hexano y (c) en disolución acuosa. (De S. F. Mason, J. Chem. Soc., 1959, 1265. Con permiso.)

14B-2. Absorción en la que participan los electrones d y f

La mayoría de los iones de los metales de transición absorben en la región ultravioleta o visible del espectro. Para la serie de lantánidos y actínidos, los procesos de absorción son el resultado de transiciones electrónicas de los electrones $4f$ y $5f$; para los elementos de la primera y segunda serie de los metales de transición, los electrones responsables son los $3d$ y $4d$.

Absorción por iones lantánidos y actínidos

Los iones de la mayoría de los elementos lantánidos y actínidos absorben en las regiones ultravioleta y visible. A diferencia del comportamiento de la mayoría de los absorbentes inorgánicos y orgánicos, sus espectros están formados por picos de absorción característicos, bien definidos y estrechos, que se ven muy poco afectados por el tipo de ligando asociado con el ion metálico. En la Figura 14-6

TABLA 14-3. Efecto de los multicromóforos en la absorción

Compuesto	Tipo	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$	Olefina	184	≈ 10.000
$\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$	Diolefina (no conjugada)	185	≈ 20.000
$\text{H}_2\text{C}=\text{CHCH}=\text{CH}_2$	Diolefina (conjugada)	217	21.000
$\text{H}_2\text{C}=\text{CHCH}=\text{CHCH}=\text{CH}_2$	Triolefina (conjugada)	250	—
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\overset{\text{O}}{\parallel}\text{CCH}_3$	Cetona	282	27
$\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{CH}_2\overset{\text{O}}{\parallel}\text{CCH}_3$	Cetona insaturada (no conjugada)	278	30
$\text{CH}_2=\text{CH}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{CCH}_3$	α,β -cetona insaturada (conjugada)	324	24
		219	3.600

se muestran los espectros característicos de cuatro lantánidos.

Las transiciones responsables de la absorción de los elementos de la serie de los lantánidos parecen involucrar los distintos niveles de energía de los electrones 4f, mientras que en la serie de los actínidos son los electrones 5f los que interactúan con la radiación. Estos orbitales internos están muy protegidos de las influencias externas por los orbitales ocupados por electrones con mayores números cuánticos principales. Como consecuencia, las bandas son estrechas y no se ven relativamente

afectadas por la naturaleza del disolvente o de las especies unidas a los electrones externos.

Absorción por los elementos de la primera y la segunda serie de los metales de transición

Los iones y complejos de los 18 elementos de la primera de las dos series de transición tienden a absorber radiación visible en uno, si no en todos, sus estados de oxidación. Sin embargo, al contrario que en los elementos de los lantánidos y actínidos, las bandas de absorción son, con frecuencia, an-

TABLA 14-4. Características de absorción de los compuestos aromáticos

Compuesto		Banda E ₂		Banda B	
		$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$
Benceno	C_6H_6	204	7.900	256	200
Tolueno	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$	207	7.000	261	300
m-Xileno	$\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_3)_2$	—	—	263	300
Clorobenceno	$\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}$	210	7.600	265	240
Fenol	$\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$	211	6.200	270	1.450
Ion fenolato	$\text{C}_6\text{H}_5\text{O}^-$	235	9.400	287	2.600
Anilina	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$	230	8.600	280	1.430
Ion anilinio	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_3^+$	203	7.500	254	160
Tiofenol	$\text{C}_6\text{H}_5\text{SH}$	236	10.000	269	700
Naftaleno	C_{10}H_8	286	9.300	312	289
Estireno	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}=\text{CH}_2$	244	12.000	282	450

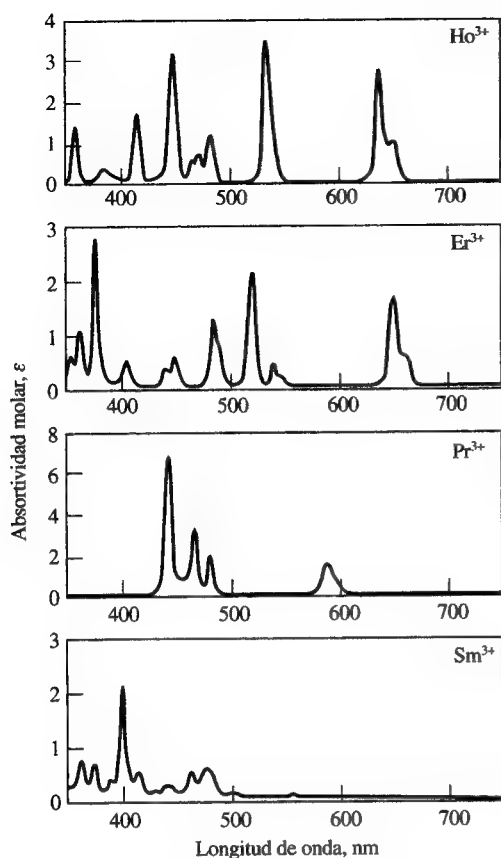


Figura 14-6. Espectros de absorción característicos de iones lantánidos.

chas (Fig. 14-7) y están enormemente influenciadas por los factores químicos del entorno. Un ejemplo del efecto del entorno se encuentra en el color azul pálido del ion cobre(II) acuoso y el color azul, mucho más oscuro, del complejo del cobre con amoníaco.

La serie de los metales de transición se caracteriza por tener cinco orbitales d parcialmente ocupados ($3d$ en la primera serie y $4d$ en la segunda), cada uno de ellos capaces de alojar a un par de electrones. Las características espectrales de los metales de transición suponen transiciones entre los distintos niveles de energía de estos orbitales d .

Se han propuesto dos teorías para explicar los colores de los iones de los metales de transición y la profunda influencia del entorno químico sobre estos colores. La *teoría del campo cristalino*, que se analizará brevemente, es la más sencilla de las dos teorías y es adecuada para una comprensión cualitativa. Sin embargo, el tratamiento, más com-

plejo, de los orbitales moleculares, proporciona un tratamiento cuantitativo del fenómeno más adecuado⁵.

Ambas teorías se basan en la premisa de que las energías de los orbitales d de los iones de los metales de transición en disolución no son iguales y que la absorción supone la transición de los electrones de un orbital d de menor energía a otro de mayor energía. En ausencia de un campo eléctrico o magnético externo (como en el estado gaseoso diluido), las energías de los cinco orbitales d son idénticas y, un electrón, para pasar de un orbital a otro, no necesita absorber radiación. Por otra parte, cuando tiene lugar la formación de un complejo en disolución entre el ion metálico y el agua o algún otro ligando, surge el desdoblamiento de las energías de los orbitales d . Este efecto se debe a las diferentes fuerzas de repulsión electrostáticas entre el par de electrones del donador y los electrones en los distintos orbitales d del ion metálico central. Para entender este desdoblamiento de energías, es necesario considerar la distribución espacial de los electrones en los distintos orbitales d .

En la Figura 14-8 se muestra la distribución de la densidad electrónica de los cinco orbitales d alrededor del núcleo. Tres de los orbitales, denominados d_{xy} , d_{xz} y d_{yz} , son similares en todos los aspectos excepto en su orientación espacial. Obsérvese que estos tres orbitales ocupan los espacios *entre* los tres ejes; como consecuencia, tienen una densidad electrónica mínima a lo largo de los ejes y una densidad máxima en la diagonal entre los ejes. Por el contrario, las densidades electrónicas de los orbitales $d_{x^2-y^2}$ y d_{z^2} están dirigidas a lo largo de los ejes.

Consideremos ahora un ion de un metal de transición unido por enlaces de coordinación a seis moléculas de agua. Se puede imaginar que estas moléculas ligandos están distribuidas de forma simétrica alrededor del átomo central, cada ligando localizado al final de los tres ejes que se muestra en la Figura 14-8; la estructura octaédrica resultante es la orientación más común para los complejos de los metales de transición. Los extremos negativos de los dipolos del agua están orientados hacia el ion metálico y los campos eléctricos de estos dipolos tienden a ejercer un efecto repulsivo sobre todos los orbitales d , *de este modo aumentan su energía*; entonces se dice que los orbitales han sido

⁵ Para una discusión no matemática de estas teorías, véase L. E. Orgel, *An Introduction to Transition Metal Chemistry, Ligand-Field Theory*. New York: Wiley, 1960.

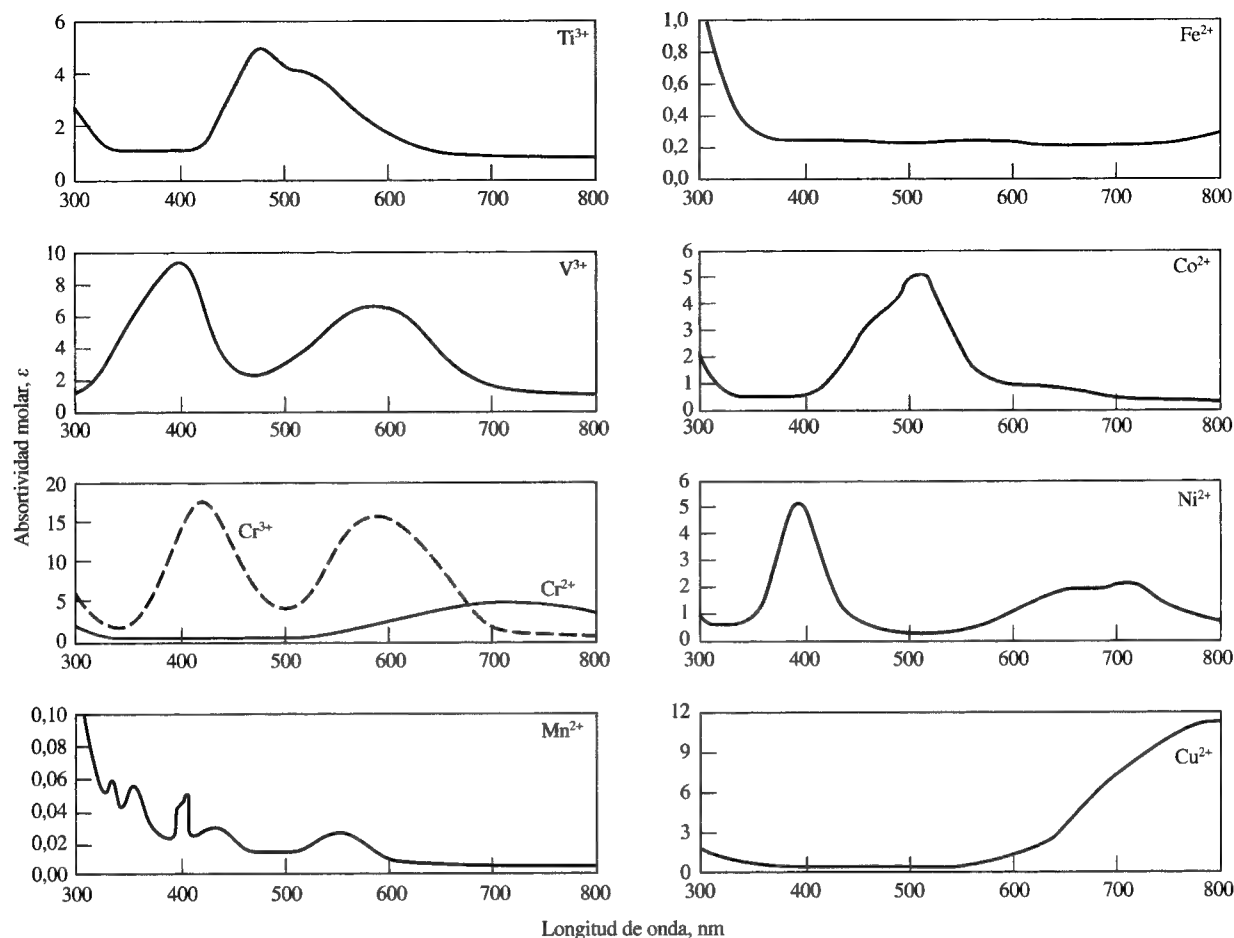


Figura 14-7. Espectros de absorción de algunos iones de metales de transición.

desestabilizados. La densidad de carga máxima de los orbitales d_{z^2} está situada a lo largo de los ejes de unión. El campo negativo de un ligando unido tiene además un efecto mayor sobre este orbital que sobre los orbitales d_{xy} , d_{xz} y d_{yz} , cuyas densidades de carga no coinciden con los ejes de unión. Estos últimos orbitales se desestabilizarán de la misma forma, puesto que difieren uno de otro sólo en lo que respecta a la orientación. El efecto del campo eléctrico sobre los orbitales $d_{x^2-y^2}$, es menos obvio, pero cálculos cuánticos han demostrado que está igualmente desestabilizado que el orbital d_{z^2} . Así, el diagrama de niveles de energía para la configuración octaédrica (Fig. 14-9) muestra que las energías de todos los orbitales d aumentan en presencia de un campo ligando pero, además, que los orbitales d se desdoblan en niveles que difieren en un Δ de energía. También se muestran diagramas de energía para complejos con cuatro enlaces coordi-

nados. Se encuentran dos configuraciones; la *tetraédrica*, en la que los cuatro grupos se distribuyen simétricamente en el espacio alrededor del ion metálico, y la *plano cuadrada*, en la que los cuatro ligandos se encuentran en el mismo plano que el ion metálico y equidistantes al mismo. Los modelos de desdoblamiento de los orbitales d correspondientes a cada configuración se pueden deducir a partir de argumentos similares a los utilizados en la estructura octaédrica.

La magnitud del Δ (Fig. 14-9) depende de varios factores, que incluyen la carga del ion metálico y la posición del elemento en el sistema periódico. Una variable importante atribuible al ligando es la *fuerza del campo ligando*, que es una medida de la intensidad con que un grupo complejante desdoblará la energía de los electrones d ; es decir, un agente complejante con una fuerza de campo ligando alta provocará un Δ grande.

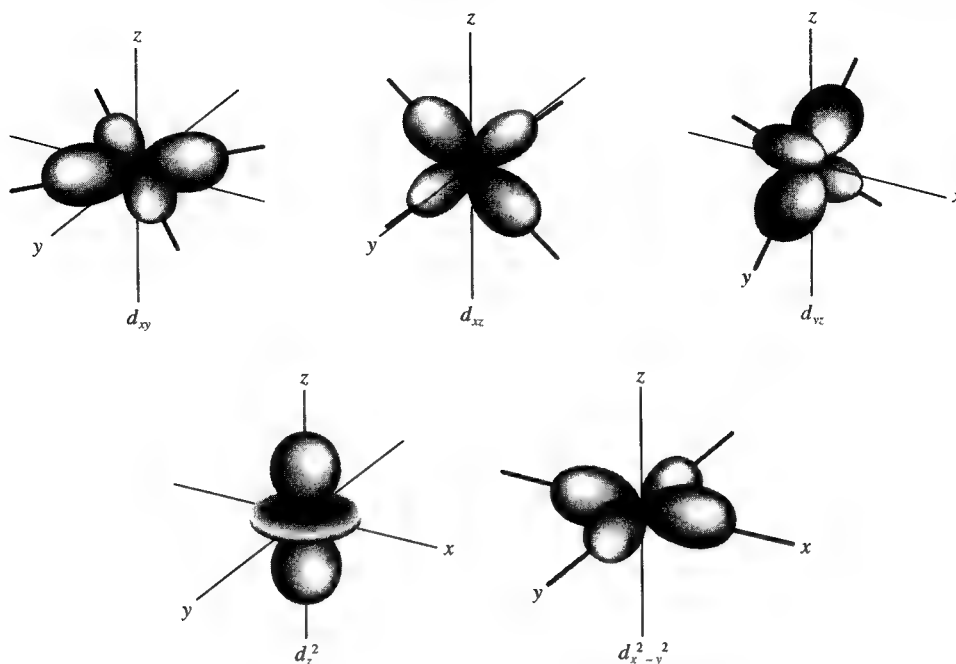


Figura 14-8. Distribución de la densidad electrónica en los cinco orbitales d .

Es posible ordenar los ligandos más comunes en orden creciente de fuerzas del campo ligando: $\text{I}^- < \text{Br}^- < \text{Cl}^- < \text{F}^- < \text{OH}^- < \text{C}_2\text{O}_4^{2-} \approx \text{H}_2\text{O} < \text{SCN}^- < \text{NH}_3 < \text{etilendiamina} < o\text{-fenantrolina} < \text{NO}_2^- < \text{CN}^-$. Con sólo pocas excepciones, este orden se aplica a todos los iones de los metales de transición y permite realizar predicciones cualitativas sobre las posiciones relativas de los picos de absorción para los diversos complejos de un ion metálico de transición dado. Puesto que el Δ aumenta al aumentar la fuerza del campo, la longitud de onda del máximo de absorción disminuye. Este efecto se demuestra en los datos de la Tabla 14-5.

14B-3. Absorción por transferencia de carga

Desde el punto de vista analítico, las especies que presentan *absorción por transferencia de carga*⁶ tienen particular importancia, ya que sus absorptividades molares son muy altas ($\epsilon_{\text{máx}} > 10.000$). Así, estos complejos proporcionan unos medios de muy elevada sensibilidad para la detección y determina-

ción de especies absorbentes. Muchos complejos inorgánicos presentan absorción por transferencia de carga y por ello se llaman *complejos de transferencia de carga*. Ejemplos comunes de tales complejos incluyen el complejo fenólico y el complejo de tiocianato con el hierro(III), el complejo de *o*-fenantrolina de hierro(II), el complejo de yoduro de yodo molecular y el complejo ferro/ferricianuro responsable del color azul de Prusia. La Figura 14-10 incluye los espectros de estos tres complejos.

Para que un complejo presente un espectro de transferencia de carga, es necesario que uno de sus componentes tenga características de dador de electrones y el otro componente tenga propiedades de aceptor de electrones. La absorción de la radiación implica, entonces, la transferencia de un electrón desde el dador hasta un orbital que está en gran parte asociado con el aceptor. Como consecuencia, el estado excitado es el resultado de un proceso tipo oxidación/reducción interno. Este comportamiento difiere del de un cromóforo orgánico, donde el electrón en el estado excitado está en un orbital molecular formado por dos o más átomos.

Un ejemplo bien conocido de absorción por transferencia de carga se observa en el complejo hierro(III)/tiocianato. La absorción de un fotón da lugar a la transferencia de un electrón del ion tiocianato a un orbital asociado con el hierro(III). El

⁶ Para una breve discusión de este tipo de absorción, véase C. N. R. Rao, *Ultra-Violet and Visible Spectroscopy: Chemical Applications*, 3.^a ed., Capítulo 11. London: Butterworths, 1975.

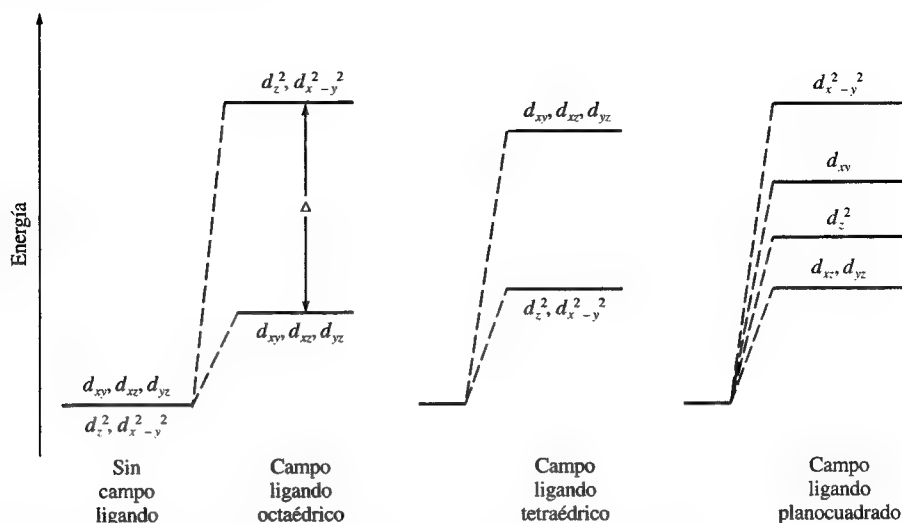


Figura 14-9. Efecto del campo ligando en las energías de los orbitales d .

producto es, por tanto, una especie excitada formada predominantemente por el ion hierro(II) y el radical neutro tiocianato SCN. Como en otros tipos de excitación electrónica, el electrón, bajo condiciones normales, tras un breve período, vuelve a su estado original. Sin embargo, ocasionalmente, puede tener lugar la disociación del complejo excitado, originando productos de oxidación/reducción fotoquímica.

En la mayoría de los complejos de transferencia de carga que incluyen un ion metálico, el metal actúa como aceptor de electrones. Una excepción es el complejo de *o*-fenantrolina con el hierro(II) o el cobre(I), donde el ligando es el aceptor y el ion metálico es el dador. Se conocen más ejemplos de este tipo.

Los compuestos orgánicos forman complejos de transferencia de carga muy interesantes. Un ejemplo es la quinidrona (un complejo 1:1 de quinona e hidroquinona), que muestra una fuerte absorción en la región visible. Otros ejemplos incluyen complejos de yodo con aminas, compuestos aromáticos y sulfuros, entre otros.

14C. APLICACIÓN DE LAS MEDIDAS DE ABSORCIÓN AL ANÁLISIS CUALITATIVO

Las aplicaciones de la espectrofotometría ultravioleta y visible en el análisis cualitativo están en cier-

ta medida limitadas, ya que el número de máximos y mínimos de absorción es relativamente pequeño. Por tanto, una identificación inequívoca es a menudo imposible.

14C-1. Modalidades de registro gráfico de datos espectrales

En espectroscopia molecular cualitativa existen diferentes tipos de registros espectrales. Lo más habitual es representar en ordenadas el porcentaje de transmitancia, la absorbancia, el logaritmo de la absorbancia o la absorptividad molar. En abscisas es habitual representar la longitud de onda o el número de onda, aunque en algunas ocasiones se emplea la frecuencia. La Figura 14-11 muestra el efecto de la concentración de analito en tres de los modelos de registros más comunes. Al comparar los registros (a) y (b) se observa que en el registro de absorbancia las diferencias entre las alturas de los picos en función de la concentración son mayores que en el registro de transmitancia. Por otra parte, las diferencias entre las curvas son mayores cuando las transmitancias son elevadas. Un registro en el que en ordenadas se representa el logaritmo de absorbancia, conduce a una pérdida de detalle espectral, pero es conveniente para comparar espectros de disoluciones de distintas concentraciones, ya que las curvas se desplazan la misma magnitud a lo largo del eje vertical para múltiplos iguales de concentración.

TABLA 14-5. Efecto de los ligandos sobre los máximos de absorción asociados a transiciones $d \rightarrow d$

Ion central	$\lambda_{\text{máx}}(\text{nm})$ para los ligandos indicados				
	Aumento de la fuerza del campo ligando				
	6Cl^-	$6\text{H}_2\text{O}$	6NH_3	3en^a	6CN^-
Cr(III)	736	573	462	456	380
Co(III)	—	538	435	428	294
Co(II)	—	1.345	980	909	—
Ni(II)	1.370	1.279	925	863	—
Cu(II)	—	794	663	610	—

^a en = etilendiamina, un ligando dentado = $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$.

14C-2. Disolventes

Al elegir un disolvente no sólo se tiene que tener en cuenta su transparencia sino también sus posibles efectos sobre el sistema absorbente. Con bastante frecuencia, los disolventes polares como el agua, alcoholes, ésteres y cetonas tienden a borrar la estructura fina del espectro que resulta de los cambios vibracionales; es más probable obtener espectros parecidos a los originados en fase gaseosa (véase Fig. 14-12) cuando se utilizan disolventes no polares como los hidrocarburos. Además, las posiciones de los máximos de absorción se ven afectadas por la naturaleza del disolvente. Es imprescindible utilizar el mismo disolvente cuando se comparan espectros de absorción con fines de identificación.

En la Tabla 14-6 se enumeran algunos disolventes comunes y la longitud de onda aproximada por debajo de la cual no pueden usarse debido a la absorción. Este mínimo depende en gran medida de la pureza del disolvente⁷. Entre los disolventes habituales para espectrofotometría ultravioleta se incluyen agua, etanol del 95 por 100, ciclohexano y 1,4-dioxano. Para la región visible, cualquier disolvente incoloro es útil.

⁷ La gran mayoría de los proveedores de reactivos químicos en los Estados Unidos ofrecen los grados espectroquímicos de los disolventes; éstos satisfacen o superan los requisitos publicados en *Reagent Chemicals, American Chemical Society Specifications*, 8.^a ed. Washington, DC: American Chemical Society, 1993. Un suplemento de 1996 está disponible en un fichero Adobe Acrobat® PDF en el World Wide Web en: <http://pubs.acs.org/books/reagents/index@.html>.

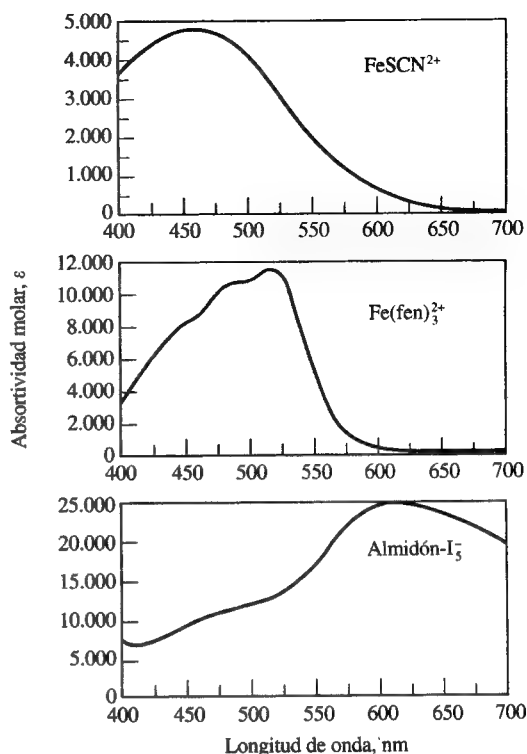


Figura 14-10. Espectros de transferencia de carga de tres especies.

14C-3. Detección de grupos funcionales

Aunque esta técnica no puede proporcionar la identificación inequívoca de un compuesto orgánico, el espectro de absorción en las regiones del ultravioleta y visible es, sin embargo, útil para detectar la presencia de ciertos grupos funcionales que actúan como cromóforos⁸. Por ejemplo, una banda de absorción débil en la región de 280 a 290 nm, que se desplaza hacia longitudes de onda más cortas cuando aumenta la polaridad del disolvente, indica firmemente la presencia de un grupo carbonilo. Una banda de absorción débil próxima a 260 nm con indicios de estructura fina vibracional constituye una evidencia de la existencia de un anillo aromático. Para confirmar la presencia de una amina aromática o de una estructura fenólica se pueden comparar los efectos del pH en los espectros de las

⁸ Véase R. M. Silverstein, G. C. Bassler y T. C. Morrill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5.^a ed., Capítulo 6. New York: Wiley, 1991.

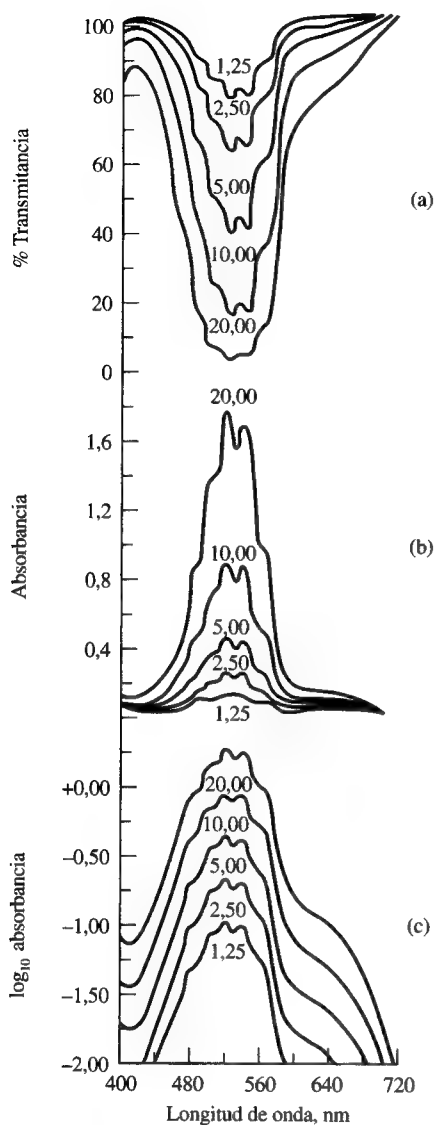


Figura 14-11. Modalidades de registro de los datos espectrales. Los números bajo las curvas indican la concentración en ppm del KMnO_4 en la disolución; $b = 2,00$ cm.

disoluciones de la muestra con los que se indican en la Tabla 14-4 para el fenol y la anilina.

14D. ANÁLISIS CUANTITATIVO MEDIANTE MEDIDAS DE ABSORCIÓN

La espectroscopia de absorción es una de las herramientas más útiles y más utilizadas por el químico

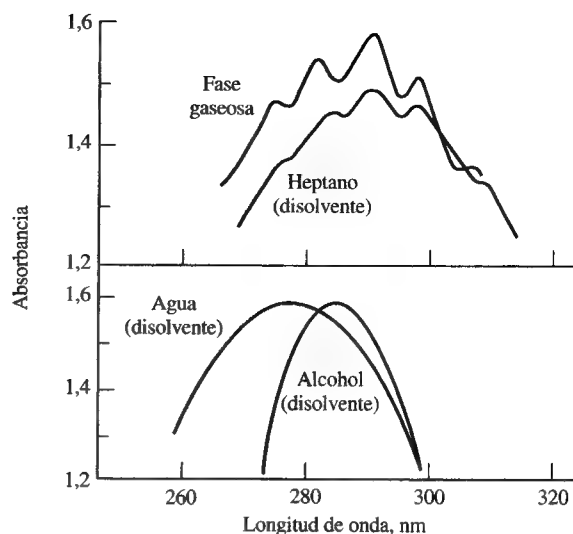


Figura 14-12. Efecto del disolvente sobre el espectro de absorción del acetaldehído.

en el análisis cuantitativo⁹. Las importantes características de los métodos espectrofotométricos y fotométricos incluyen: (1) gran aplicabilidad tanto para sistemas orgánicos como inorgánicos, (2) sensibilidades características de 10^{-4} a 10^{-5} M (con frecuencia este intervalo puede ampliarse de 10^{-6} a 10^{-7} M con ciertas modificaciones)¹⁰, (3) selectividad, de moderada a alta, (4) buena precisión (normalmente, se encuentran *incertidumbres* relativas de 1 a 3 por 100, aunque, con precauciones especiales, los errores se pueden reducir a algunas décimas por ciento) y (5) adquisición de datos fácil y adecuada.

14D-1. Campo de aplicación

Las aplicaciones de los métodos de absorción ultravioleta/visible cuantitativos no sólo son numerosas sino que abarcan todos los campos en los que se demanda información química cuantitativa. Por ejemplo, se ha estimado que solamente en el cam-

⁹ Para más información práctica y detallada sobre prácticas espectrofotométricas, véase *Techniques in Visible and Ultraviolet Spectrometry*, Vol. 1, *Standards in Absorption Spectroscopy*, C. Burgess y A. Knowles, Eds. London: Chapman and Hall, 1981; J. R. Edisbury, *Practical Hints on Absorption Spectrometry*. New York: Plenum Press, 1968.

¹⁰ Véase, por ejemplo: T. D. Harris, *Anal. Chem.*, **1982**, *54*, 741A.

TABLA 14-6. Disolventes para las regiones ultravioleta y visible

Disolvente	Mínimo aproximado ^a de transparencia (nm)
Agua	190
Etanol	210
<i>n</i> -Hexano	195
Ciclohexano	210
Benceno	280
Dietil éter	210
Acetona	330
1,4-Dioxano	220

^a Para cubetas de 1 cm.

po de la sanidad, un 95 por 100 de las determinaciones cuantitativas se llevan a cabo por espectrofotometría ultravioleta/visible y este número representa muchos más de los 3 millones de ensayos diarios llevados a cabo en los Estados Unidos¹¹.

El lector puede hacerse una idea del campo de aplicación de la espectrofotometría consultando la serie de artículos de revisión publicados periódicamente en *Analytical Chemistry*¹² y las monografías que tratan de este tema¹³.

Aplicaciones a especies absorbentes

Las Tablas 14-2, 14-3 y 14-4 muestran los grupos cromóforos orgánicos más comunes. La determinación espectrofotométrica de cualquier compuesto orgánico que contiene uno o más de estos grupos es

potencialmente posible; en la bibliografía se encuentran muchos ejemplos de este tipo de determinaciones.

También absorben numerosas especies inorgánicas y son, por tanto, susceptibles de determinación directa; ya se han enumerado diversos metales de transición. Pero además existen otras especies que también presentan absorción característica. Como ejemplos se pueden citar los iones nitrito, nitrato y cromato; los tetróxidos de osmio y rutenio; el yodo molecular y el ozono.

Aplicaciones a especies no absorbentes

Numerosos reactivos reaccionan selectivamente con especies no absorbentes y generan productos que absorben fuertemente en las regiones ultravioleta y visible¹⁴. El éxito de la aplicación de tales reactivos en el análisis cuantitativo requiere, normalmente, que la reacción de formación de color sea prácticamente completa. Hay que señalar que los reactivos que generan color también se utilizan, a menudo, para la determinación de especies absorbentes, como los iones de los metales de transición; la absorptividad molar del producto es, con frecuencia, varios órdenes de magnitud superior a la de las especies no combinadas.

Un gran número de agentes complejantes encuentran aplicación en la determinación de especies inorgánicas. Los reactivos inorgánicos típicos incluyen el ion tiocianato para el hierro, cobalto y molibdeno; el anión de peróxido de hidrógeno para el titanio, vanadio y cromo; y el ion yoduro para el bismuto, paladio y telurio. Los agentes quelantes orgánicos, que forman complejos coloreados estables con los cationes, son incluso más importantes. Como ejemplos se pueden incluir la *o*-fenantrolina para la determinación de hierro, la dimetilglioxima para el níquel, el dietilditiocarbamato para el cobre y la difenilditiocarbazona para el plomo.

14D-2. Detalles del procedimiento

Las primeras etapas de un análisis fotométrico o espectrofotométrico incluyen el establecimiento de las condiciones de trabajo y la preparación de una curva de calibrado que relacione la absorbancia con la concentración.

¹⁴ Por ejemplo, véase la primera referencia en la nota 13 a pie de página.

¹¹ R. W. Birke y R. Mavrodineanu, *Accuracy in Analytical Spectrophotometry*, NBS Special Publication 260-81, pág. 1. Washington, DC: National Bureau of Standards, 1983.

¹² Véase J. A. Howell y L. G. Hargis, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 169R; **1994**, 66, 445R; **1992**, 64, 66R; **1990**, 62, 155R; **1988**, 60, 131R; **1986**, 58, 108R; **1984**, 56, 225R.

¹³ Por ejemplo, véase E. B. Sandell y H. Onishi, *Colorimetric Determination of Traces of Metals*, 4.^a ed. New York: Interscience, 1978; *Colorimetric Determination of Nonmetals*, 2.^a ed., D. F. Boltz y J. A. Howell, Eds. New York: Wiley, 1978; Z. Marczenko, *Separation and Spectrophotometric Determination of Elements*. New York: Halsted Press, 1986; M. Pisez y J. Bartos, *Colorimetric and Fluorometric Analysis of Organic Compounds and Drugs*. New York: Marcel Dekker, 1974; F. D. Snell, *Photometric and Fluorometric Method of Analysis*, Partes 1 y 2, «Metals»; Parte 3, «Nonmetals». New York: Wiley, 1978-1981.

Selección de la longitud de onda

Las medidas de absorbancia espectrofotométricas se hacen, normalmente, a una longitud de onda correspondiente a un pico de absorción, ya que el cambio en la absorbancia por unidad de concentración es mayor en este punto, consiguiéndose, así, la máxima sensibilidad. Además, la curva de absorción es, a menudo, plana en esta región; bajo estas circunstancias, se puede esperar una buena observancia de la ley de Beer (Fig. 13-5). Finalmente, las medidas son menos sensibles a las incertidumbres que surgen de las limitaciones del instrumento para reproducir con precisión la longitud de onda seleccionada.

Variables que influyen en la absorbancia

Las variables que suelen influir en el espectro de absorción de una sustancia incluyen la naturaleza del disolvente, el pH de la disolución, la temperatura, las concentraciones de electrólito y la presencia de sustancias interferentes. Los efectos de estas variables deben conocerse; y deben elegirse las condiciones para el análisis de manera que la absorbancia no se vea prácticamente afectada por las pequeñas e incontroladas variaciones en sus magnitudes.

Limpieza y manipulación de las cubetas

Para que el análisis espectrofotométrico sea exacto es necesario el uso de cubetas contrastadas de buena calidad. Éstas deben calibrarse con regularidad, una frente a la otra, para detectar las diferencias que pueden surgir por ralladuras, ataques por ácidos y desgaste por el uso. Es igualmente importante el uso de técnicas de limpieza y secado de las cubetas adecuadas. Erickson y Surles¹⁵ recomiendan la siguiente secuencia de limpieza para las caras externas de las cubetas. Antes de la medida, las superficies de la cubeta se limpian con un papel para lentes empapado con metanol de calidad para espectrometría. El papel se coge con una pinza; después de la limpieza, el metanol se evapora, dejando las superficies de la cubeta libres de contaminantes. Los autores mostraron que este método era muy superior al procedimiento usual de limpieza de las superficies de la cubeta con papel para lentes seco, el cual aparentemente deja pelusas y películas en la superficie.

Determinación de la relación entre absorbancia y concentración

Después de decidir las condiciones para el análisis, es necesario preparar la curva de calibrado a partir de una serie de disoluciones patrón que abarquen el intervalo de concentración esperado en las muestras. Rara vez, o nunca, es seguro asumir el cumplimiento de la ley de Beer y utilizar sólo un único patrón para determinar la absortividad molar. Los resultados de un análisis *nunca* deberían basarse en los valores de absortividad molar encontrados en la literatura.

Lo ideal es que los patrones de calibración tengan una composición parecida a la de las muestras a analizar, no sólo en cuanto a la concentración del analito sino también con respecto a la concentración de las otras especies presentes en la matriz de la muestra, para minimizar los efectos de los distintos componentes de la muestra en la absorbancia medida. Por ejemplo, la absorbancia de muchos complejos de iones metálicos muy coloreados disminuye en distinto grado en presencia de iones sulfato o fosfato como consecuencia de la tendencia de estos iones a formar complejos no coloreados con los iones metálicos. Como consecuencia, la reacción de formación de color suele ser menos completa, dando como resultado menores absorbancias. El efecto matriz del sulfato y fosfato puede contrarrestarse añadiendo a los estándares cantidades de estas dos especies similares a las encontradas en las muestras. Desafortunadamente, cuando se analizan materiales complejos como suelos, minerales y plantas fósiles, la preparación de patrones semejantes a las muestras suele ser imposible o extremadamente difícil. En estos casos, el *método de adición estándar* suele ser útil para contrarrestar los efectos de la matriz.

Método de adición estándar

Se pueden aplicar distintas modalidades del método de adición estándar¹⁶. La que se selecciona con mayor frecuencia para los análisis fotométricos y espectrofotométricos, y que se ha discutido con detalle en el Apartado 1E-2, supone la adición de uno o más volúmenes iguales de disolución estándar a alícuotas de la muestra del mismo tamaño. Después cada disolución se diluye hasta un volumen fijo antes de medir su absorbancia. El Ejemplo 1-3 (página 18) ilustra la aplicación de este método a los datos de la determinación fotométrica del hie-

¹⁵ J. O. Erickson y T. Surles, *Amer. Lab.*, **1976**, 8 (6), 50.

¹⁶ Véase M. Bader, *J. Chem. Educ.*, **1980**, 57, 703.

ro(III) basada en la formación del complejo rojo con tiocianato (véase Fig. 14-13).

Cuando interesa ahorrar tiempo o muestra, es posible realizar un análisis de adición estándar utilizando sólo dos volúmenes de muestra. En este caso, se haría una única adición de V_s mL de patrón a una de las dos muestras. Esta modalidad se basa en la ecuación (véase página 19)

$$c_x = \frac{A_1 c_s V_s}{(A_2 - A_1) V_x} \quad (14-1)$$

EJEMPLO 14-1

2,00 mL de una muestra de orina se trataron con un reactivo que genera color con el fosfato, a continuación la muestra se diluyó hasta 100 mL. A otros 2,00 mL de la misma muestra se añadieron exactamente 5,00 mL de una disolución de fosfato que contenía 0,0300 mg de fosfato/mL y fue tratada de la misma forma que la muestra original. La absorbancia de la primera disolución fue 0,428, la de la segunda fue 0,538. Calcular la concentración de la muestra problema en miligramos de fosfato por mililitro.

Aquí se sustituye en la Ecuación 14-1 y se obtiene

$$c_x = \frac{0,428 \times 0,0300 \text{ (mg PO}_4^{3-}/\text{mL)} \times 5,00 \text{ mL}}{(0,538 - 0,428) \times 2,00 \text{ mL muestra}} = 0,292 \text{ mg PO}_4^{3-}/\text{mL muestra}$$

Análisis de mezclas de sustancias absorbentes

La absorbancia total de una disolución, a una longitud de onda dada, es igual a la suma de las absorbancias que presentan los componentes individuales (Ecuación 13-9). Esta relación hace posible la determinación cuantitativa de los constituyentes individuales de una mezcla, incluso si su espectro se solapa. Considérese, por ejemplo, los espectros de M y de N, que se muestran en la Figura 14-14. Obsérvese que no existe ninguna longitud de onda en la cual la absorbancia de esta mezcla se deba exclusivamente a uno de los componentes; así, la determinación bien de M o de N es imposible con una única medida. Sin embargo, las absorbancias de la mezcla a las dos longitudes de onda; λ' y λ'' se pueden expresar como sigue:

$$A' = \epsilon'_M b c_M + \epsilon'_N b c_N \quad (\text{a } \lambda')$$

$$A'' = \epsilon''_M b c_M + \epsilon''_N b c_N \quad (\text{a } \lambda'')$$

Las cuatro absorptividades molares ϵ'_M , ϵ'_N , ϵ''_M , y ϵ''_N , pueden calcularse a partir de disoluciones estándar individuales de M y de N, o mejor, a partir de las pendientes de sus representaciones gráficas de la ley de Beer. Las absorbancias de la mezcla A' y A'' , se pueden medir experimentalmente, al igual que b , el espesor de la cubeta. Así, a partir de estas dos ecuaciones, se pueden calcular fácilmente las concentraciones de los constituyentes individuales, c_M y c_N . Estas relaciones son válidas sólo si se cumple la ley de Beer y si los dos componentes se comportan de manera independiente el uno del

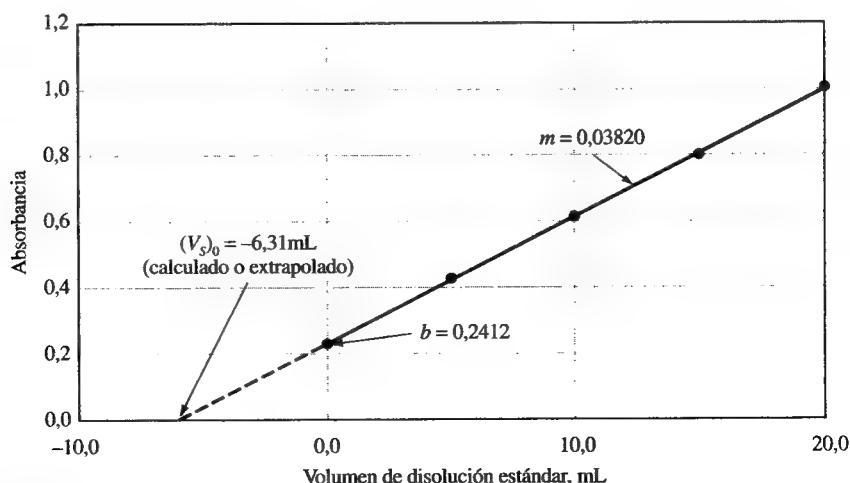


Figura 14-13. Datos del método de adición estándar para la determinación de Fe^{3+} como complejo con SCN^- .

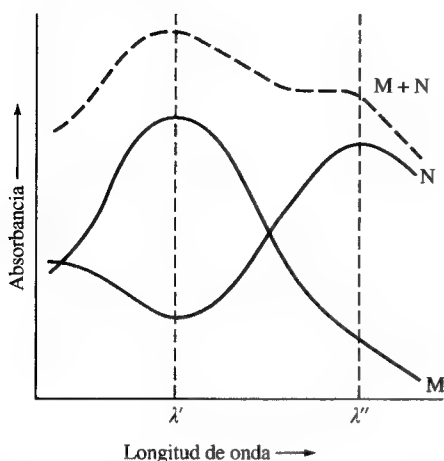


Figura 14-14. Espectro de absorción de una mezcla de dos compuestos. Las longitudes de onda óptimas λ' y λ'' para la determinación de los dos compuestos se indican con líneas verticales discontinuas.

otro. La mayor exactitud en un análisis de este tipo se alcanza cuando se seleccionan longitudes de onda en las que las diferencias entre las absorptividades molares sean grandes.

Se pueden analizar mezclas que contengan más de dos especies absorbentes, al menos en principio, si se hace una medida adicional de absorbancia para cada componente añadido. Sin embargo, la incertidumbre en los datos resultantes se hace mayor cuando el número de medidas aumenta. Algunos de los espectrofotómetros más modernos, controlados por ordenador, son capaces de reducir estas incertidumbres mediante un elevado número de determinaciones del sistema. Es decir, estos instrumentos utilizan muchos más datos que incógnitas y deducen, con eficacia, el espectro completo de la mezcla desconocida, lo más fielmente posible, mediante técnicas de mínimos cuadrados que utilizan métodos de álgebra matricial. Para los análisis se necesitan los espectros de las disoluciones patrón de cada uno de los componentes.

14D-3. Espectrofotometría derivada y de longitud de onda dual¹⁷

En la espectrofotometría derivada, los espectros se obtienen representando gráficamente la derivada

primera o de mayor orden, de la absorbancia o de la transmitancia, con respecto a la longitud de onda, en función de la longitud de onda. A menudo estas representaciones gráficas revelan detalles espectrales que se pierden en un espectro ordinario. Además, a veces se pueden realizar las medidas de concentración de un analito en presencia de un interferente, con más facilidad y exactitud. Desafortunadamente, las ventajas de los espectros derivados se contrarrestan, al menos parcialmente, por una reducción en la relación señal/ruido que acompaña a la obtención de las derivadas. En muchas zonas de las regiones ultravioleta y visible, sin embargo, la relación señal/ruido no es un factor limitante serio; es en estas regiones donde más se utilizan los espectros derivados. Una desventaja adicional de la espectrofotometría derivada es que, generalmente, necesita un equipo más costoso.

Para obtener los espectros derivados se utilizan una variedad de métodos. Para espectrofotómetros digitales controlados por un microprocesador, la diferenciación se puede llevar a cabo numéricamente utilizando el ajuste polinomial de mínimos cuadrados derivados que se trata en el Apartado 5C-2. Con instrumentos analógicos, las derivadas de los datos espectrales se pueden obtener mediante un circuito amplificador operacional adecuado (véase Apartado 3E-4). Existe un tercer procedimiento que se logra mediante la modulación de la longitud de onda.

Dispositivos de modulación de la longitud de onda

Se han desarrollado varios procedimientos para conseguir la modulación de la longitud de onda. En algunos de ellos, se barre un intervalo de longitudes de onda de unos pocos nanómetros rápida y repetitivamente mientras que se hace un barrido del espectro de la forma usual. La amplitud de la señal de corriente alterna resultante en el detector es una buena aproximación de la derivada del espectro respecto de la longitud de onda. El barrido rápido repetitivo se obtiene por algún medio mecánico, como la oscilación o la vibración de un espejo, una rendija o un elemento dispersante de un monocromador. Un segundo esquema para la modulación de la longitud de onda y que lo ofrecen

¹⁷ Para más información, véase G. Talsky, *Derivative Spectrophotometry*, New York: VCH Publishers, 1994; T. C. O'Hayer, *Anal. Chem.*, **1979**, *51*, 91A; F. Sánchez Rajas, C. Bosch

Ojeda y J. M. Cano Pavón, *Talanta*, **1988**, *35*, 753; J. E. Cahill, *Amer. Lab.*, **1979**, *11* (11), 79; J. E. Cahill y F. G. Padera, *Amer. Lab.*, **1980**, *12* (4), 101; T. J. Porro, *Anal. Chem.*, **1972**, *44* (4), 93A.

varios fabricantes de instrumentos, requiere el uso de un sistema dispersante doble ordenado de tal manera que dos haces de longitudes de onda ligeramente diferentes (normalmente 1 o 2 nm) van a incidir alternativamente en una cubeta de muestra y su detector; no se utiliza haz de referencia. El parámetro que se genera es la diferencia entre las señales alternas, que da una buena aproximación de la derivada de las absorbancias en función de la longitud de onda ($\Delta A/\Delta \lambda$). La Figura 14-15 representa un esquema de un instrumento de longitud de onda dual. Obsérvese que la cubeta de referencia no se utiliza y la cubeta de la muestra se expone alternativamente a la radiación procedente de cada uno de los monocromadores. Generalmente, los instrumentos de longitud de onda dual también pueden trabajar en la modalidad de longitud de onda sencilla, con la radiación pasando alternativamente a través de la cubeta de referencia y de la muestra.

Aplicaciones de los espectros derivados

Muchas de las aplicaciones más importantes de la espectroscopia derivada en las regiones ultravioleta y visible han consistido en las identificaciones cualitativas de especies, en las cuales el detalle aumentado de un espectro derivado hace posible distinguir entre compuestos que tienen espectros solapados. La Figura 14-16 ilustra la manera en que una gráfica derivada puede revelar los detalles de un espectro formado por tres picos de absorción solapados.

La espectrofotometría de longitud de onda dual ha demostrado ser particularmente útil para la obtención de espectros de absorción ultravioleta/visible de analitos presentes en disoluciones turbias, donde la dispersión de la luz elimina los detalles de

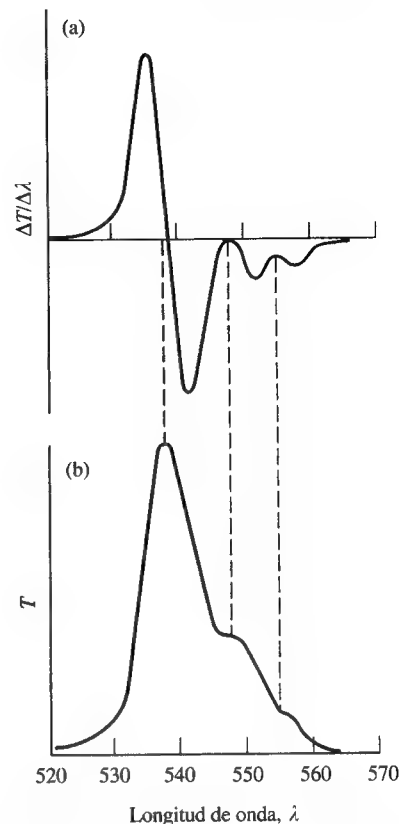


Figura 14-16. Comparación de un espectro derivado (a) con un espectro de transmitancia convencional (b).

un espectro de absorción. Por ejemplo, tres aminoácidos, el triptofano, la tirosina y la fenilalanina contienen cadenas aromáticas secundarias, que presentan picos de absorción agudos en la zona de 240 a 300 nm. Sin embargo, estos picos agudos no están claros en los espectros de las preparaciones de proteínas típicas, tales como la albúmina bovina o de huevo, ya que las moléculas grandes dispersan fuertemente la radiación, dando lugar sólo a un pico de absorción suave tal como el que aparece en la Figura 14-17a. La estructura fina aromática se descubre en los espectros de primera y segunda derivada, como muestran las curvas (b) y (c).

La espectrofotometría de longitud de onda dual también es útil para el análisis de un analito en presencia de una interferencia espectral. En estos casos, el instrumento trabaja en la modalidad de no barrido, midiendo las absorbancias a dos longitudes de onda en las cuales la interferencia tiene idénticas absorptividades molares. Por el contrario, el analito debe absorber con más intensidad en una de estas longitudes de onda que en la otra. Enton-

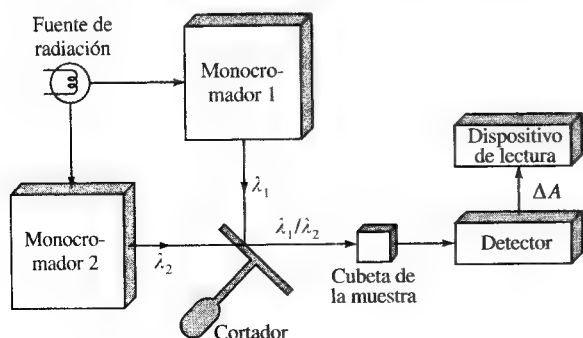


Figura 14-15. Esquema de un espectrofotómetro de longitud de onda dual. El cortador hace pasar alternativamente a λ_1 y λ_2 a través de la muestra.

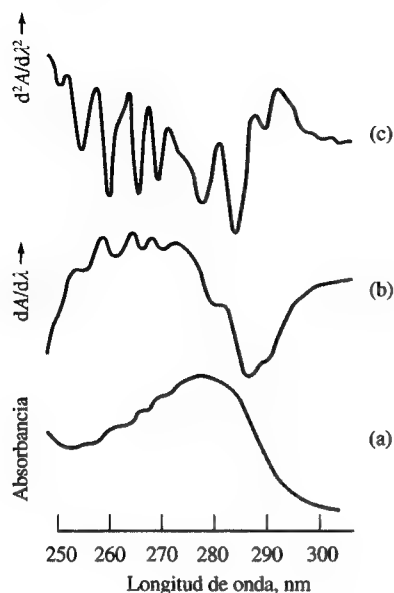


Figura 14-17. Espectros de absorción de albúmina bovina: (a) espectro ordinario; (b) primera derivada del espectro; (c) segunda derivada del espectro.

ces, la absorbancia diferencial es directamente proporcional a la concentración de analito.

14E. VALORACIONES FOTOMÉTRICAS

Las medidas fotométricas o espectrofotométricas pueden utilizarse provechosamente para localizar el punto de equivalencia de una valoración, siempre que el analito, el reactivo o el producto de la valoración absorban radiación¹⁸. En otros casos, un indicador absorbente puede proporcionar el cambio de absorbancia necesario para localizar el punto de equivalencia.

14E-1. Curvas de valoración

Una curva de valoración fotométrica es una representación gráfica de la absorbancia, corregida por los cambios de volumen, en función del volumen de valorador. Si se eligen las condiciones de mane-

ra adecuada, la curva constará de dos regiones lineales con diferentes pendientes, una tiene lugar al principio de la valoración y la otra localizada más allá de la zona del punto de equivalencia; el punto final se toma como la intersección de las dos porciones lineales extrapoladas. La Figura 14-18 muestra algunas curvas de valoración características. La valoración de una especie no absorbente con un valorador coloreado que origina un producto de reacción incoloro da lugar a una línea horizontal en las etapas iniciales, seguido de un rápido ascenso de la absorbancia pasado el punto de equivalencia (Fig. 14-18a). Por otro lado, la formación de un producto coloreado, a partir de reactivos incoloros, produce inicialmente un aumento lineal en la absorbancia, seguido de una región en la cual la absorbancia se mantiene independiente del volumen de reactivo añadido (Fig. 14-18b). Dependiendo de las características de absorción de los reactivos y de los productos, son también posibles las otras formas de curva que se muestran en la Figura 14-18.

Con objeto de obtener un punto final fotométrico satisfactorio, es necesario que el(los) sistema(s) absorbente(s) cumpla(n) la ley de Beer; de otro modo, la curva de valoración carecerá de las regiones lineales necesarias para la extrapolación al punto final. Además, como consecuencia de los cambios de volumen, es necesario corregir la absorbancia; aquí, los valores observados se multiplican por $(V + v)/V$, donde V es el volumen original de la disolución y v es el volumen de valorador añadido. Se introduce un pequeño error como resultado de suponer que los volúmenes V y v son aditivos.

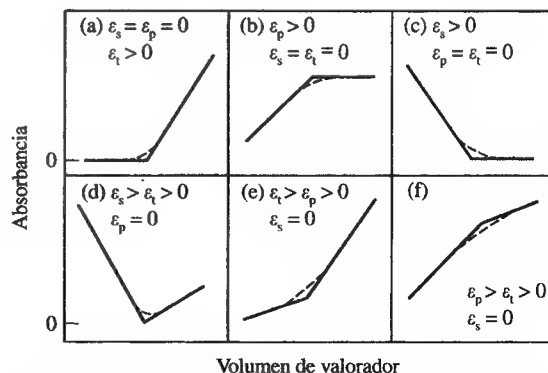


Figura 14-18. Curvas de valoraciones fotométricas características. Las absorptividades molares de la sustancia a valorar, el producto y el valorador se indican como ϵ_s , ϵ_p y ϵ_t , respectivamente.

¹⁸ Para más información respecto a esta técnica, véase J. B. Headridge, *Photometric Titrations*. New York: Pergamon Press, 1961; M. A. Leonard, en *Comprehensive Analytical Chemistry*, G. Svehla, Ed., Vol. 8, Capítulo 3. New York: Elsevier, 1977.

14E-2. Instrumentación

Las valoraciones fotométricas se llevan a cabo, normalmente, con un espectrofotómetro o un fotómetro que se ha modificado para poder intercalar el recipiente de valoración en la trayectoria de la luz. Como alternativa, se puede utilizar una cubeta tipo sonda, como la que se muestra en la Figura 13-16. Después de ajustar el cero de la escala de medida, se deja pasar la radiación a través de la disolución que contiene el analito y el instrumento se ajusta variando la intensidad de la fuente o la sensibilidad del detector hasta obtener una lectura de absorbancia adecuada. Normalmente, no se hacen grandes esfuerzos por medir la verdadera absorbancia, ya que, cuando el objetivo es detectar el punto final, los valores relativos son perfectamente válidos. Los datos de la valoración se recogen sin modificar el ajuste del instrumento.

La potencia de la fuente de radiación y la respuesta del detector deben de ser razonablemente constantes durante el período requerido para una valoración fotométrica. Normalmente se utilizan recipientes cilíndricos y se debe tener cuidado de evitar cualquier movimiento del mismo que pueda alterar la longitud del paso óptico

Para las valoraciones fotométricas se han utilizado tanto los fotómetros de filtro como los espectrofotómetros. Sin embargo, se prefieren los últimos, ya que sus anchuras de banda, más estrechas, aumentan la probabilidad de cumplimiento de la ley de Beer.

14E-3. Aplicación de las valoraciones fotométricas

Con frecuencia, las valoraciones fotométricas proporcionan resultados más exactos que los obtenidos mediante un análisis fotométrico directo, ya que para determinar el punto final se utilizan los datos de varias medidas. Además, la presencia de otras especies absorbentes puede no interferir, ya que sólo se mide un cambio en la absorbancia

El punto final obtenido fotométricamente posee la ventaja sobre muchos otros métodos, normalmente utilizados para obtener el punto final, de que los datos experimentales se toman bastante lejos de la región del punto de equivalencia. Así, las reacciones de valoración no necesitan tener constantes de equilibrio tan favorables como las requie-

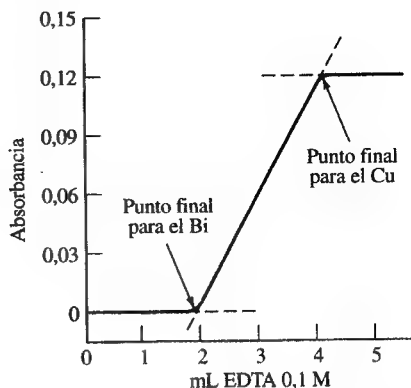


Figura 14-19. Curva de valoración fotométrica de 100 mL de una disolución $2,0 \times 10^{-3}$ M de Bi^{3+} y Cu^{2+} . Longitud de onda: 745 nm.

ridas en una valoración que depende de las medidas realizadas cerca del punto de equivalencia (por ejemplo, puntos finales obtenidos potenciométricamente o con indicador). Por esta misma razón, pueden valorarse disoluciones relativamente diluidas.

El punto final obtenido fotométricamente se ha aplicado a todo tipo de reacciones¹⁹. Muchos de los reactivos utilizados en las valoraciones de oxidación/reducción tienen espectros de absorción característicos y, de este modo, producen puntos finales detectables fotométricamente. Los indicadores ácido/base se han utilizado para valoraciones fotométricas de neutralización. El punto final obtenido fotométricamente también se ha utilizado, ventajosamente, en las valoraciones con EDTA y con otros agentes complejantes. La Figura 14-19 ilustra la aplicación de este punto final en la valoración sucesiva de bismuto(III) y cobre(II). A 745 nm, ninguno de los cationes ni el reactivo absorben, tampoco lo hace el complejo más estable del bismuto, que se forma en la primera parte de la valoración; sin embargo, sí que absorbe el complejo del cobre. Por tanto la disolución no presenta absorbancia hasta que todo el bismuto se ha valorado. En el momento en que comienza a formarse el complejo de cobre tiene lugar un aumento de la absorbancia. Ésta continúa aumentando hasta que se alcanza el punto de equivalencia del cobre. Las posteriores adiciones de reactivo no producen más cambios en la absorbancia. Se obtienen dos puntos finales bien definidos.

¹⁹ Véase, por ejemplo, la revisión: A. L. Underwood, *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation*, C. N. Reilly, Ed. Vol. 3, págs. 31-104. New York: Interscience, 1964.

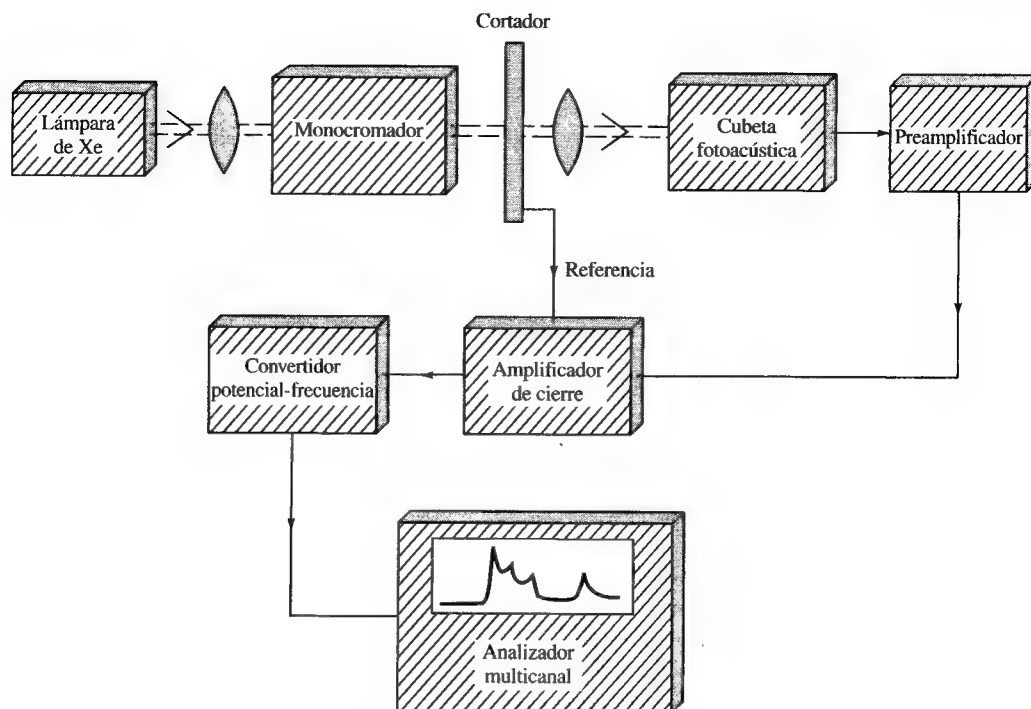


Figura 14-20. Diagrama de bloques de un espectrofotómetro fotoacústico de haz sencillo con procesador de datos digital.

El punto final detectado fotométricamente se ha adaptado también a las valoraciones de precipitación. Aquí, el producto sólido suspendido tiene el efecto de disminuir la potencia radiante por dispersión; las valoraciones se llevan a cabo hasta que se consigue alcanzar una turbidez constante.

14-F. ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA

La espectroscopia fotoacústica (PAS) u optoacústica, que se desarrolló a principios de los años setenta, proporciona un medio para obtener espectros de absorción ultravioleta, visible e infrarrojo, de sólidos, semisólidos y líquidos turbios. La adquisición de espectros para este tipo de muestras por métodos ordinarios es, en el mejor de los casos, normalmente difícil y, a menudo, imposible como consecuencia de la dispersión y reflexión de la luz.

14F-1. El efecto fotoacústico

La espectroscopia fotoacústica se basa en el efecto de absorción de la luz que fue investigado por pri-

mera vez en 1880 por Alexander Graham Bell y otros. Este efecto se observa cuando un gas que se encuentra en el interior de una cubeta cerrada es irradiado con un haz de radiación intermitente de una longitud de onda que es absorbida por el gas. La radiación absorbida provoca calentamientos periódicos del gas, que, como consecuencia, dan lugar a fluctuaciones regulares de la presión en el interior de la cámara. Si la frecuencia de la intermitencia está dentro del intervalo de la frecuencia acústica, estos impulsos de la presión pueden detectarse con un micrófono sensible. El efecto fotoacústico se ha utilizado desde los comienzos del siglo XX para el análisis de gases absorbentes y, recientemente, con la llegada de los láseres de radiación en el infrarrojo sintonizables, como fuentes, han adquirido nueva importancia para este objetivo. De mayor importancia, sin embargo, ha sido la aplicación de este fenómeno en la obtención de los espectros de absorción de sólidos y de líquidos turbios²⁰.

²⁰ Para una revisión de las aplicaciones, véase A. Rosencwaig, *Anal. Chem.*, **1975**, *47*, 592A; J. W. Lin y L. P. Dubek, *Anal. Chem.*, **1979**, *51*, 1627; J. F. McClelland, *Anal. Chem.*, **1983**, *55*, 89A; D. Betteridge y P. J. Meylor, *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.*, **1984**, *14*, 267; A. Rosencwaig, *Photoacoustics and Photoacoustic Spectroscopy*. New York: Wiley, 1980.

14F-2. Espectros fotoacústicos

En los estudios fotoacústicos de sólidos, la muestra se coloca en una cubeta cerrada que contiene aire o cualquier otro gas no absorbente y un micrófono sensible. El sólido es entonces irradiado con un haz intermitente procedente de un monocromador. El efecto fotoacústico se observa *siempre que la radiación incidente es absorbida por el sólido*; la potencia del sonido resultante está directamente relacionada con el grado de absorción. La radiación reflejada o dispersada por la muestra no tiene ningún efecto en el micrófono y por tanto no interfiere. Esta última propiedad es, quizás, la característica más importante del método.

La causa del efecto fotoacústico en sólidos parece ser similar a la de gases. Es decir, la relajación no radiante del sólido absorbente provoca un flujo de calor periódico desde el sólido hacia el gas que le rodea; las fluctuaciones de presión resultantes en el gas son, entonces, detectadas por el micrófono.

14F-3. Instrumentos

La Figura 14-20 es un diagrama de bloques en el que se muestran los componentes de un espectrofotómetro fotoacústico de haz sencillo. En este aparato, primero se registra digitalmente el espectro de la lámpara, seguido del espectro de la muestra. Los datos de la lámpara almacenados se utilizan para eliminar, en la señal que procede de la muestra, las variaciones de la señal de salida de la lámpara, en función de la longitud de onda. Con esta técnica, es necesario asumir una ausencia de deriva en la fuente y en los sistemas de detección. Se han descrito, también, instrumentos de doble haz que eliminan en gran parte los problemas de deriva. Uno de estos instrumentos está equipado con un par de cubetas contrastadas (y detectores), una de ellas contiene la muestra y la otra un material de referencia como carbón finamente dividido. Otro instrumento comercialmente disponible se basa también en el principio de división del haz. Sin embargo, en este instrumento, alrededor del 8 por 100 de la señal que procede del monocromador de red se dirige a un detector piroeléctrico y el resto pasa por la cubeta de la muestra. La señal del detector de la muestra se compara con la del detector piroeléctrico para producir un espectro que corrige de esta manera las variaciones en la señal de salida de la

lámpara en función de la longitud de onda y del tiempo.

14F-4. Aplicaciones

La Figura 14-21 ilustra una aplicación de la espectrofotometría fotoacústica ultravioleta/visible. Aquí, se muestran los espectros de frotis de sangre total, de células de sangre libres de plasma y de hemoglobina extraída de las células. La espectroscopia convencional, incluso en el caso de disoluciones de sangre total muy diluidas, no da espectros satisfactorios, debido a la gran dispersión de

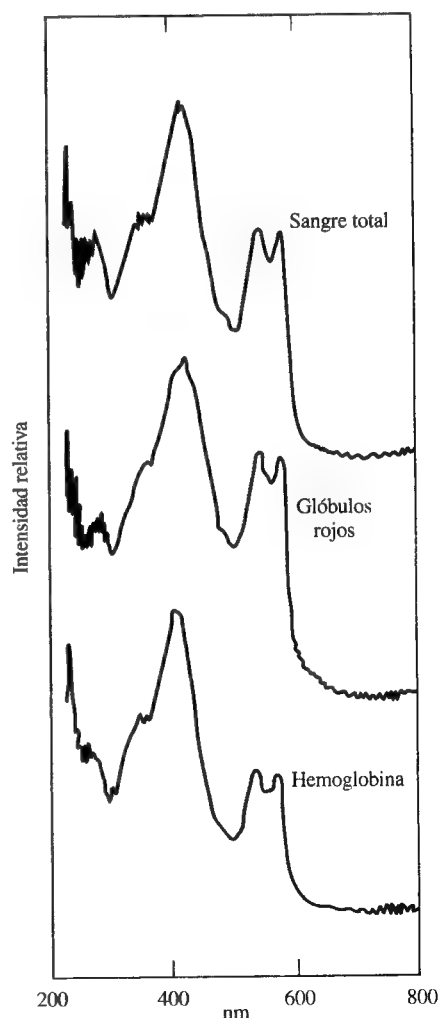


Figura 14-21. Espectros fotoacústicos de frotis de sangre y de componentes de sangre. (Reproducido con permiso de A. Rosencwaig, Anal. Chem., 1975, 47, 596A. Copyright 1975 American Chemical Society.)

luz que originan las células de sangre, y las moléculas de proteínas y de lípidos presentes. La espectroscopia fotoacústica permite estudios espectroscópicos de sangre sin necesidad de una separación preliminar de estas grandes moléculas.

La Figura 14-22 muestra otra aplicación de la espectroscopia fotoacústica. Los cinco espectros de la izquierda corresponden a cinco compuestos orgánicos previamente separados en placas de cromatografía en capa fina (Apartado 28H). Estos espectros se obtuvieron directamente a partir de las placas de capa fina; para comparar, a la derecha se muestran los espectros de las disoluciones. La semejanza entre ambos hace posible una identificación rápida de los compuestos.

Otras aplicaciones del método incluyen el estudio de minerales; semiconductores; productos naturales, como algas marinas y tejidos animales; revestimientos de superficies; y superficies catalíticas.

Finalmente, las medidas fotoacústicas han demostrado ser útiles en la región del infrarrojo medio para la identificación cualitativa de los componentes en sólidos orgánicos e inorgánicos y en varios tipos de polímeros comerciales. Normalmente, se necesitan técnicas de transformada de Fourier para obtener relaciones S/R satisfactorias. Las cubetas fotoacústicas son, generalmente, asequibles como accesorios de los instrumentos de transformada de Fourier²¹.

²¹ Para una descripción de los accesorios disponibles comercialmente para FTIR fotoacústica, véase D. Noble, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 757A.

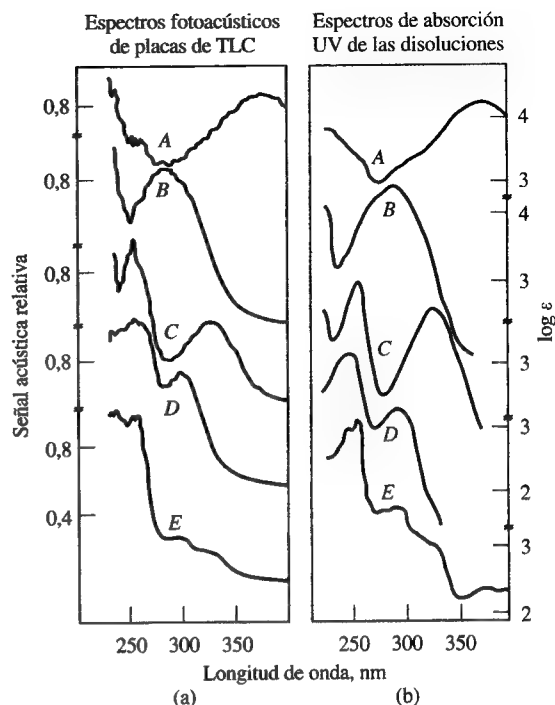


Figura 14-22. Espectros de las manchas de un cromatograma de capa fina (izquierda) y de las disoluciones de los mismos compuestos (derecha). Los compuestos son: (A) *p*-nitroanilina, (B) benzilidenacetona, (C) salicilaldehído, (D) 1-tetralona y (E) fluorenona. (Reproducido con permiso de A. Rosencwaig, *Anal. Chem.*, **1975**, 47, 600A. Copyright 1975 American Chemical Society.)

14G. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 14-1.** Tras las diluciones oportunas de una disolución patrón, se obtuvieron disoluciones de hierro cuyas concentraciones se muestran a continuación. Posteriormente se obtuvo el complejo de hierro(II)/1,10-fenantrolina en alícuotas de 25,0 mL de estas disoluciones, a continuación cada una de ellas se diluyó hasta 50,0 mL. Se leyeron las siguientes absorbancias, a 510 nm:

Concentración de Fe(II) en las disoluciones originales, ppm,	Absorbancia, A (cubetas de 1,00 cm)
2,00	0,164
5,00	0,425
8,00	0,628
12,00	0,951
16,00	1,260
20,00	1,582

- (a) Construir una curva de calibrado a partir de estos datos.
- (b) Por el método de los mínimos cuadrados (Apartado a1C, Apéndice 1), obtener una ecuación que relacione la absorbancia con la concentración de hierro(II).
- (c) Calcular la desviación estándar de la regresión.
- (d) Calcular la desviación estándar de la pendiente.

14-2. El método desarrollado en el Problema 14-1 se aplicó en la determinación rutinaria de hierro en alícuotas de 25,0 mL de aguas naturales. Determinar la concentración (en ppm de Fe) de muestras que dieron los datos de absorbancia que siguen (en cubetas de 1,00 cm). Estimar las desviaciones estándar para las concentraciones calculadas. Repetir los cálculos considerando que los datos de absorbancia son la media de tres medidas.

- (a) 0,107 (b) 0,721 (c) 1,538.

14-3. Comprobar los resultados encontrados en la Tabla 13-2.

14-4. Una alícuota de 25,0 mL de una disolución acuosa de quinina se diluyó hasta 50,0 mL y se encontró una absorbancia de 0,832 a 348 nm, cuando se midió en una cubeta de 2,00 cm. Una segunda alícuota de 25,0 mL se mezcló con 10,00 mL de una disolución que contenía 23,4 ppm de quinina; después de diluir hasta 50,0 mL, esta disolución presentó una absorbancia de 1,220 (cubeta de 2,00 cm). Calcular la concentración, en partes por millón, de quinina en la muestra.

14-5. Una muestra de 5,12 g de un pesticida se descompuso mediante digestión húmeda y a continuación se diluyó hasta 200,0 mL en un matraz aforado. El análisis se completó tratando las alícuotas de esta disolución como se indica.

Volumen de muestra tomado, mL	Volúmenes de reactivo utilizados, mL			Absorbancia, A, 545 nm (cubetas de 1,00 cm)
	3,82 ppm Cu ²⁺	Ligando	H ₂ O	
50,0	0,00	20,0	30,0	0,512
50,0	4,00	20,0	26,0	0,844

Calcular el porcentaje de cobre en la muestra.

14-6. La determinación simultánea de cobalto y níquel se puede basar en la absorción de sus respectivos complejos con 8-hidroxiquinolinol. Las absorptividades molares correspondientes a sus máximos de absorción son las siguientes:

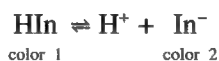
	Absortividad molar, ϵ ,	
	365 nm	700 nm
Co	3.529	428,9
Ni	3.228	10,2

Calcular la concentración molar de níquel y cobalto en cada una de las siguientes disoluciones, basándose en los siguientes datos:

Disolución	Absorbancia, A (cubetas de 1,00 cm)	
	365 nm	700 nm
(a)	0,598	0,039
(b)	0,902	0,072

- 14-7. Cuando se midió, en una cubeta de 1,00 cm, una disolución $8,50 \times 10^{-5}$ M de la especie A, presentó absorbancias de 0,129 y 0,764 a 475 y 700 nm respectivamente. Una disolución $4,65 \times 10^{-5}$ M de la especie B dio absorbancias de 0,567 y 0,083 bajo las mismas condiciones. Calcular las concentraciones de A y B en disoluciones que dieron los siguientes resultados de absorbancia en una cubeta de 1,25 cm: (a) 0,502 a 475 nm y 0,912 a 700 nm; (b) 0,675 a 475 nm y 0,696 a 700 nm.

- 14-8. Una disolución acuosa diluida del indicador ácido/base HIn experimenta la siguiente reacción:



Para una disolución $5,00 \times 10^{-4}$ M de HIn en NaOH 0,1 M y HCl 0,1 M, se obtuvieron los siguientes datos de absorbancia. Las medidas se realizaron a las longitudes de onda de 485 nm y 625 nm en cubetas de 1,00 cm.

$$\begin{array}{lll} 0,1 \text{ M NaOH} & A_{485} = 0,052 & A_{625} = 0,823 \\ 0,1 \text{ M HCl} & A_{485} = 0,454 & A_{625} = 0,176 \end{array}$$

En la disolución de NaOH, prácticamente todo el indicador está presente como In^- ; en la disolución ácida, está todo prácticamente en forma de HIn.

- Calcular las absorptividades molares para In^- y HIn a 485 y 625 nm.
 - Calcular la constante de acidez del indicador si una disolución tampón de pH 5,00 que contiene una pequeña cantidad de indicador presenta una absorbancia de 0,472 a 485 nm y 0,351 a 625 nm (cubetas de 1,00 cm).
 - ¿Cuál es el pH de una disolución que contiene una pequeña cantidad del indicador y que presenta una absorbancia de 0,530 a 485 nm y 0,216 a 635 nm (cubetas de 1,00 cm)?
 - Una alícuota de 25,00 mL de una disolución de un ácido orgánico débil purificado HX necesitó exactamente 24,20 mL de una disolución patrón de una base fuerte para alcanzar el punto final con fenofaleína. Cuando se añadieron exactamente 12,10 mL de la base a una segunda alícuota de 25,00 mL del ácido, que contenía una pequeña cantidad del mismo indicador, la absorbancia fue de 0,306 a 485 nm y 0,555 a 625 nm (cubetas de 1,00 cm). Calcular el pH de la disolución y la K_a del ácido débil.
 - ¿Cuál sería la absorbancia de una disolución $2,00 \times 10^{-4}$ M de indicador que estuviese tampónada a pH 6,000 a 485 y a 625 nm (cubetas de 1,25 cm)?
- 14-9. El error absoluto en la transmitancia para un fotómetro concreto es 0,005 y es independiente de la magnitud de T . Calcular el porcentaje de error relativo en la concentración producido por esta fuente cuando
- $A = 0,585$
 - $T = 49,6 \%$
 - $A = 1,800$
 - $T = 0,0592$
 - $T = 99,25 \%$
 - $A = 0,0055$

14-10. En el espectro de absorción del complejo bismuto(III)/tiourea existe un máximo a 470 nm y en el del complejo bismuto(III)/EDTA uno a 265 nm. Predecir la forma de la curva para la valoración fotométrica de

- (a) bismuto(III) con tiourea (tu) a 470 nm.
 (b) bismuto(III) con EDTA (H_2Y^{2-}) a 265 nm.
 (c) complejo de bismuto(III)/tiourea con EDTA a 470 nm. Reacción:

$$Bi(tu)_6^{3+} + H_2Y^{2-} \rightarrow BiY^- + 6tu + 2H^+$$

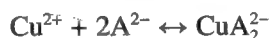
 (d) la reacción en (c) a 265 nm.

14-11. A partir de los siguientes datos



y sabiendo que entre los diferentes reactivos y productos, sólo el CuY^{2-} absorbe a 750 nm, describir cómo podría utilizarse el Cu(II) como indicador en la valoración fotométrica de Fe(III) con H_2Y^{2-} .
 Reacción: $Fe^{3+} + H_2Y^{2-} \rightarrow FeY^- + 2H^+$

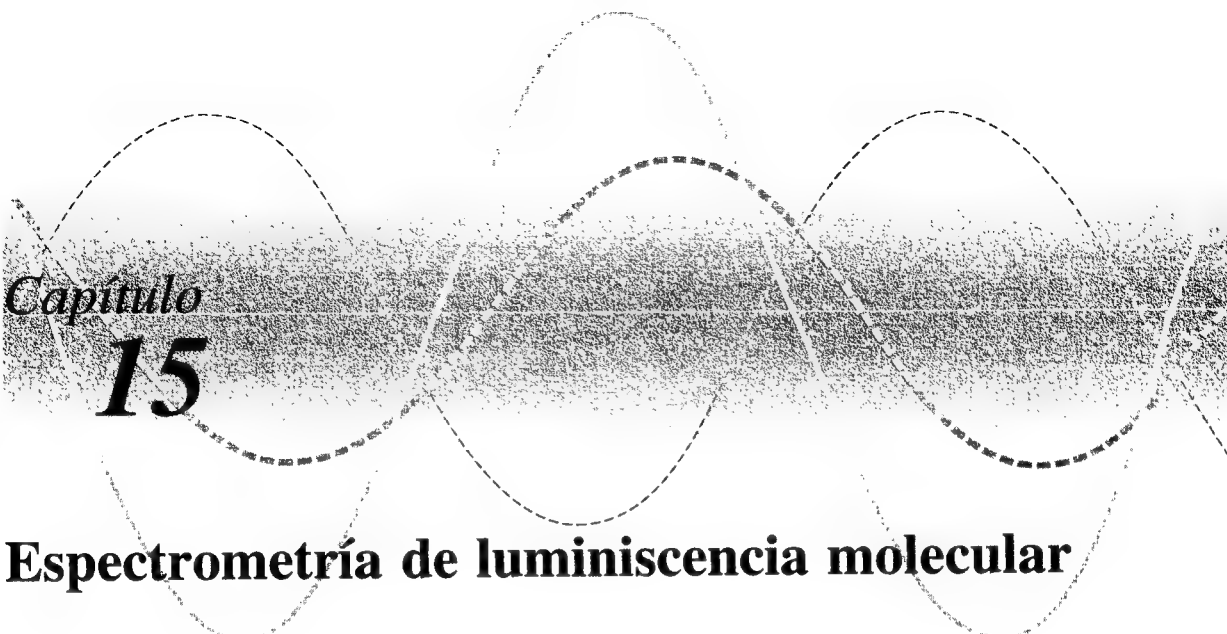
14-12. El quelato CuA_2^{2-} presenta un máximo de absorción a 480 nm. Cuando el reactivo quelante está presente en un exceso de al menos 10 veces el ion metálico, la absorbancia depende sólo de la concentración analítica de Cu(II) y se cumple la ley de Beer en un amplio intervalo de concentraciones. Una disolución en la que la concentración analítica de Cu^{2+} es de $2,30 \times 10^{-4}$ M y la de A^{2-} es $8,60 \times 10^{-3}$ M tiene una absorbancia de 0,690 cuando se mide en una cubeta de 1,00 cm a 480 nm. Una disolución en la que las concentraciones analíticas de Cu^{2+} y de A^{2-} son $2,30 \times 10^{-4}$ M y $5,00 \times 10^{-4}$ M, respectivamente, tiene una absorbancia de 0,540 cuando se mide en las mismas condiciones. Utilizando esta información, calcular la constante de formación del proceso



14-13. La mezcla del reactivo quelante B con Ni(II) da lugar a la formación del complejo NiB_2^{2+} , muy coloreado, cuyas disoluciones cumplen la ley de Beer en un amplio intervalo de concentraciones. Siempre que la concentración analítica del agente quelante exceda a la de Ni(II) en un factor de 5 (o más), el catión existe todo en forma de complejo, dentro de los límites de observación. Utilizar los datos siguientes para calcular la constante de formación K_f del proceso



Concentración analítica, M		
Ni^{2+}	B	Absorbancia, A, 395 nm (cubetas de 1,00 cm)
$2,50 \times 10^{-4}$	$2,20 \times 10^{-1}$	0,765
$2,50 \times 10^{-4}$	$1,00 \times 10^{-3}$	0,360



Capítulo 15

Espectrometría de luminiscencia molecular

En este capítulo se consideran tres tipos de métodos ópticos relacionados entre sí, llamados **fluorescencia** y **fosforescencia molecular** y **quimioluminiscencia**. En todos ellos, las moléculas de analito se excitan para dar una especie cuyo espectro de emisión suministra información para el análisis cualitativo y cuantitativo. Los métodos se conocen colectivamente como **procedimientos luminiscentes moleculares**.

La fluorescencia y la fosforescencia se parecen en que la excitación se consigue mediante la absorción de fotones. Como consecuencia, con frecuencia se alude a los dos fenómenos con el término más general de **fotoluminiscencia**. Como se verá más adelante, la fluorescencia se diferencia de la fosforescencia en que las transiciones electrónicas responsables de la fluorescencia no conllevan un cambio en el espín del electrón. Como consecuencia, la fluorescencia presenta una vida corta, cesando la luminiscencia casi inmediatamente ($<10^{-5}$ s). Por el contrario, las emisiones de fosforescencia están acompañadas por un cambio en el espín del electrón, que hace que la radiación se mantenga durante un tiempo fácilmente detectable,

después de haber acabado la irradiación —a menudo varios segundos o más—. En la mayoría de los casos, la emisión fotoluminiscente, tanto si es de fluorescencia como de fosforescencia, es de mayor longitud de onda que la radiación utilizada para su excitación.

El tercer tipo de luminiscencia, la quimioluminiscencia, se basa en el espectro de emisión de una especie excitada que se forma en el curso de una reacción química. En algunos casos, las partículas excitadas son los productos de una reacción entre el analito y un reactivo adecuado (normalmente un oxidante fuerte como el ozono o el peróxido de hidrógeno); el resultado es un espectro característico del **producto de oxidación** del analito o del reactivo en lugar del espectro del propio analito. En otros casos, el analito no participa directamente en la reacción quimioluminiscente, pero, es el efecto de inhibición o el efecto catalítico del analito sobre una reacción quimioluminiscente lo que se utiliza como el parámetro analítico.

La medida de la intensidad de fotoluminiscencia o de quimioluminiscencia permite la determinación cuantitativa de un conjunto de especies inorgánicas y orgánicas importantes, a niveles tra-

za. Actualmente, el número de métodos fluorimétricos es significativamente mayor que el número de aplicaciones de los procedimientos fosforescentes y quimioluminiscentes.

Uno de los aspectos más atractivos de la luminiscencia es su inherente sensibilidad, con límites de detección que suelen ser de uno a tres órdenes de magnitud inferiores a los encontrados en la espectroscopia de absorción. Los límites de detección característicos son del orden de partes por billón. Otra ventaja de los métodos fotoluminiscentes radica en sus amplios intervalos de linealidad, que también suelen ser significativamente mayores que los encontrados en los métodos de absorción. Debido a su alta sensibilidad, los métodos luminiscentes cuantitativos suelen sufrir serios efectos de interferencias procedentes de la matriz de la muestra. Por esta razón las medidas luminiscentes se suelen combinar con las extraordinarias técnicas de separación de cromatografía y electroforesis. Los detectores de fluorescencia son particularmente válidos como detectores para cromatografía líquida (Capítulo 28) y electroforesis capilar (Capítulo 30) por su inusual sensibilidad.

En general, los métodos luminiscentes se aplican menos que los métodos de absorción en los análisis cuantitativos debido a que el número de especies que absorben radiación ultravioleta/visible es mucho mayor que el de especies que presentan fotoluminiscencia tras la absorción de radiación en esta región del espectro¹.

15A. TEORÍA DE LA FLUORESCENCIA Y DE LA FOSFORESCENCIA

La fluorescencia tiene lugar en sistemas químicos gaseosos, líquidos y sólidos, tanto sencillos como

complejos. El tipo más sencillo de fluorescencia es el que presentan los vapores atómicos diluidos, descrito en el Capítulo 9. Por ejemplo, los electrones 3s de los átomos de sodio vaporizados pueden ser excitados al estado 3p mediante la absorción de radiación de longitudes de onda de 5.896 y 5.890 Å. Después de 10^{-8} a 10^{-5} s, los electrones vuelven al estado fundamental emitiendo radiación de estas dos mismas longitudes de onda en todas las direcciones. Este tipo de fluorescencia, en la cual la radiación absorbida es reemitida sin cambio de frecuencia, se conoce como radiación de resonancia o fluorescencia de resonancia.

Muchas especies moleculares también presentan fluorescencia de resonancia. Sin embargo, es mucho más frecuente encontrar bandas de fluorescencia (o fosforescencia) molecular centradas en longitudes de onda más largas que la línea de resonancia. Este desplazamiento hacia longitudes de onda más largas, o menores energías, se denomina *desplazamiento Stokes*.

15A-1. Estados excitados que producen fluorescencia y fosforescencia

Las características de los espectros de fluorescencia y fosforescencia se pueden explicar mediante las sencillas consideraciones que se han descrito en el Apartado 14B-1 sobre orbitales moleculares. Sin embargo, para comprender la diferencia entre los dos fenómenos fotoluminiscentes se requiere una revisión del *espín del electrón* y de los *estados excitados singulete/triplete*.

Espín del electrón

El principio de exclusión de Pauli establece que en un átomo no puede haber dos electrones con los cuatro números cuánticos iguales. Esta restricción requiere que no haya más de dos electrones en un orbital, y además, los dos deben tener los estados de espín opuestos. Cuando esto ocurre, se dice que los espines están apareados. Debido al apareamiento de espines, la mayoría de las moléculas no presentan un campo magnético neto y se dice, por tanto, que son *diamagnéticas*, es decir, no son atraídas ni repelidas por campos magnéticos permanentes. Por el contrario, los radicales libres, que contienen electrones desapareados, tienen un momento magnético y, consecuentemente, son atraídos cuando se

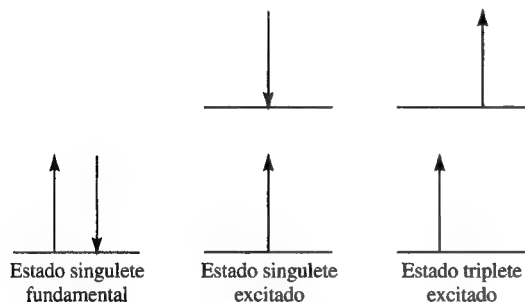
¹ Para un tratamiento adicional de la teoría y aplicaciones de la fluorescencia, fosforescencia y luminiscencia, véase *Molecular Luminescence Spectroscopy*, S. Schulman, Ed. New York: Wiley, Parte 1, 1985; Parte 2, 1988, Parte 3, 1993; E. L. Wehry, en *Physical Methods of Chemistry*, 2.ª ed., Volumen VIII, Capítulo 3, B. W. Rossiter y R. C. Baetzold, Eds. New York: Wiley, 1993; J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. New York: Plenum Press, 1983; G. G. Guilbault, *Practical Fluorescence*, 2.ª ed. New York: Marcel Dekker, 1990.

encuentran en un campo magnético; por ello, se dice que los radicales libres son *paramagnéticos*.

Estados excitados singulete/triplete

Un estado *electrónico* molecular en el cual todos los espines de los electrones están apareados se llama estado *singulete* y cuando la molécula se expone a un campo magnético no se produce un desdoblamiento de niveles de energía. Por otro lado, el estado fundamental para un radical libre, es un estado *doblete*, porque el electrón impar puede tomar dos orientaciones en un campo magnético, lo que comunica ligeras diferencias de energía al sistema.

Cuando uno de los electrones de una molécula es excitado a un nivel de energía superior, se forma un estado singulete o *triplete*. En el estado singulete excitado, el espín del electrón promocionado continúa apareado con el electrón del estado fundamental; sin embargo, en el estado triplete los espines de los dos electrones se han desapareado y, por tanto, están paralelos. Estos estados pueden representarse como sigue, donde las flechas representan la dirección del espín.



La nomenclatura de singulete, doblete y triplete deriva de consideraciones de *multiplicidad* espectroscópica, que aquí no nos conciernen. Hay que señalar que el estado triplete excitado es menos energético que el correspondiente estado singulete excitado.

Las propiedades de una molécula en el estado triplete excitado difieren significativamente de las del estado singulete excitado. Por ejemplo, una molécula es paramagnética en el estado triplete y diamagnética en el singulete. Más importante, sin embargo, es el hecho de que una transición singulete/triplete (o viceversa), que también supone un cambio en el estado electrónico, es un suceso significativamente menos probable que la correspondiente transición singulete/singulete. Como conse-

cuencia, el tiempo de vida medio de un estado triplete excitado puede oscilar desde 10^{-4} a varios segundos, mientras que el tiempo de vida medio para un estado singulete excitado es de 10^{-8} a 10^{-5} s. Además, la probabilidad de que tenga lugar la excitación inducida por radiación de una molécula en el estado fundamental a un estado triplete excitado es baja, y los picos de absorción debidos a este proceso son varios órdenes de magnitud menos intensos que los correspondientes a las transiciones análogas singulete/singulete. Se verá, sin embargo, que en ciertas moléculas, un estado triplete excitado puede poblarse desde un estado singulete *excitado*; la última consecuencia de este proceso suele ser la fosforescencia.

Diagramas de niveles de energía para las moléculas fotoluminiscentes

La Figura 15-1 es un diagrama de niveles de energía parcial para una molécula fotoluminiscente característica. La línea horizontal gruesa que se encuentra en la parte inferior de la figura representa la energía del estado fundamental de la molécula, que normalmente es un estado singulete y se designa S_0 . A temperatura ambiente, este estado representa la energía de prácticamente todas las moléculas en una disolución.

Las líneas gruesas superiores son los niveles de energía de los estados vibracionales fundamentales de los tres estados electrónicos excitados. Las dos líneas situadas a la izquierda representan los estados electrónicos *singulete* primero (S_1) y segundo (S_2). La línea de la derecha (T_1) representa la energía del primer estado electrónico *triplete*. Como ocurre normalmente, la energía del primer estado triplete excitado es menor que la energía del correspondiente estado singulete.

Tal como sugieren las líneas horizontales finas, con cada uno de los cuatro estados electrónicos están asociados numerosos niveles de energía vibracionales.

Como muestra la Figura 15-1, la excitación de esta molécula se puede producir por la absorción de dos bandas de radiación, una centrada alrededor de la longitud de onda $\lambda_1(S_0 \rightarrow S_1)$ y la segunda alrededor de la longitud de onda más corta $\lambda_2(S_0 \rightarrow S_2)$. Obsérvese que el proceso de excitación da como resultado la conversión de la molécula a cualquiera de los diversos estados excitados vibracionales. Obsérvese también que no se muestra la excitación directa a un estado triplete porque esta

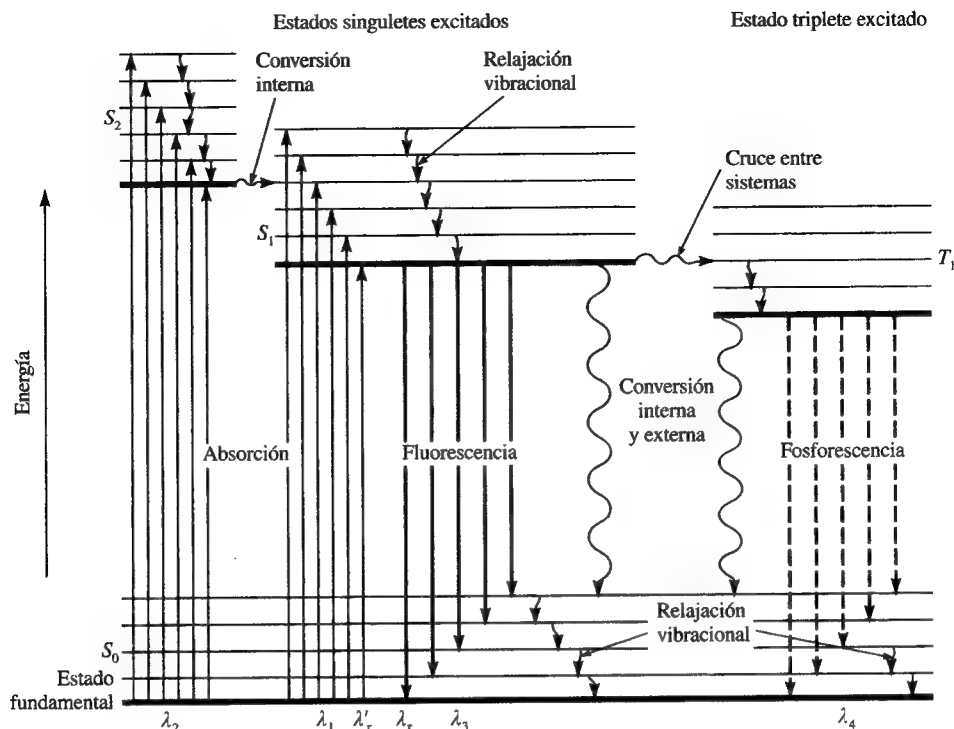


Figura 15-1. Diagrama de energía parcial para un sistema fotoluminiscente.

transición no tiene lugar de manera significativa, ya que este proceso implica un cambio en multiplicidad, suceso que, como se ha dicho, tiene una baja probabilidad de suceder (una transición de este tipo, de baja probabilidad, se llama *prohibida*).

15A-2. Velocidades de absorción y de emisión

La velocidad a la cual se absorbe un fotón de radiación es enorme, el proceso requiere del orden de 10^{-15} a 10^{-14} s. Por otro lado, la emisión fluorescente, tiene lugar a una velocidad significativamente más lenta. El tiempo de vida del estado excitado se relaciona inversamente con la absorptividad molar del pico de absorción correspondiente al proceso de excitación. Por tanto, para absorptividades molares comprendidas entre 10^3 y 10^5 , los tiempos de vida del estado excitado son de 10^{-9} a 10^{-7} s. Para sistemas débilmente absorbentes, donde la probabilidad del proceso de transición es más pequeña, los tiempos de vida pueden ser tan largos como de 10^{-6} a 10^{-5} s. Como se ha señalado, la velocidad promedio de una transición triplete a singlete es menor que la correspondiente transición singlete

a singlete. Por ello, la emisión fosforescente requiere tiempos comprendidos entre 10^{-4} y 10 s o superiores.

15A-3. Procesos de desactivación

Una molécula excitada puede volver a su estado fundamental mediante una combinación de varias etapas mecánísticas. Como muestran las flechas verticales rectas de la Figura 15-1, dos de estas etapas, fluorescencia y fosforescencia, conllevan la emisión de un fotón de radiación. Las otras etapas de desactivación, indicadas por flechas onduladas, son procesos no radiantes. El camino más propicio hacia el estado fundamental es aquel que minimiza el tiempo de vida del estado excitado. Por ello, si la desactivación por fluorescencia es más rápida que los procesos no radiantes, se observa tal emisión. Por otro lado, si la desactivación no radiante tiene una constante de velocidad más favorable, la fosforescencia desaparece o es menos intensa.

La fotoluminiscencia está limitada a un número relativamente pequeño de sistemas que incorporan características estructurales y ambientales que hacen que la velocidad de los procesos de relajación o

desactivación no radiantes se ralenticen hasta el punto en el que la reacción de emisión puede competir cinéticamente con ellos. La información referente a los procesos de emisión es suficientemente completa para permitir un cálculo cuantitativo de estas velocidades. Sin embargo, la comprensión de los otros caminos de desactivación es, en el mejor de los casos, rudimentaria; para estos procesos, sólo se pueden realizar afirmaciones o especulaciones cualitativas sobre las velocidades y los mecanismos. No obstante, la interpretación de la fotoluminiscencia requiere la consideración de estos otros caminos.

Relajación vibracional

Como se muestra en la Figura 15-1, una molécula puede promocionarse a cualquiera de los diversos niveles vibracionales durante el proceso de excitación electrónica. Sin embargo, en disolución, el exceso de energía vibracional se pierde inmediatamente como consecuencia de las colisiones entre las moléculas de las especies excitadas y las del disolvente; el resultado es una transferencia de energía y un incremento minúsculo de la temperatura del disolvente. Este proceso de relajación es tan eficaz que el tiempo de vida medio de una molécula excitada *vibracionalmente* es 10^{-12} s o menor, un período significativamente más corto que el tiempo de vida medio de un estado excitado *electrónicamente*. Como consecuencia, la fluorescencia de la disolución, cuando tiene lugar, siempre incluye una transición *desde el nivel vibracional más bajo de un estado electrónico excitado*. Sin embargo, se producen varios picos muy próximos ya que el electrón puede volver a *cualquiera de los niveles vibracionales del estado fundamental* (Fig. 15-1), después caerá rápidamente al nivel vibracional más bajo del estado electrónico fundamental mediante una nueva relajación vibracional.

Una consecuencia de la eficacia de la relajación vibracional es que la banda de fluorescencia para una transición electrónica dada se desplaza hacia menores frecuencias o longitudes de onda más largas respecto a la banda de absorción (el desplazamiento Stokes); únicamente tiene lugar una superposición para picos de resonancia que implican transiciones entre el nivel vibracional más bajo del estado fundamental y el nivel correspondiente de un estado excitado. En la Figura 15-1 la longitud de onda de la radiación absorbida que produce el pico de resonancia λ_r se representa como λ'_r .

Conversión interna

El término *conversión interna* describe los procesos intermoleculares por los cuales la molécula pasa a un estado electrónico de más baja energía sin emisión de radiación. Estos procesos ni están bien definidos ni se entienden bien, pero es evidente que suelen ser muy eficaces, ya que son relativamente pocos los compuestos que presentan fluorescencia.

La conversión interna parece ser particularmente eficaz cuando dos niveles de energía electrónicos están lo suficientemente próximos como para que haya un solapamiento de los niveles de energía vibracional. Esta situación es la que presentan los dos estados singuete excitados en la Figura 15-1. Como muestran los solapamientos, las energías potenciales de los dos estados excitados son idénticas; esta igualdad permite, aparentemente, una transición eficaz. La conversión interna a través de los niveles vibracionales solapados es normalmente más probable que la pérdida de energía por fluorescencia desde un estado excitado más alto. Así, refiriéndonos de nuevo a la Figura 15-1, la excitación producida por la banda de radiación centrada en λ_2 provoca normalmente una banda de fluorescencia centrada en una longitud de onda λ_3 con exclusión de la banda que resultaría de una transición ente S_2 y S_0 . En este caso la molécula excitada pasa del estado electrónico más alto al estado vibracional más bajo del estado electrónico excitado más bajo por una serie de relajaciones vibracionales, una conversión interna y nuevas relajaciones posteriores. En estas circunstancias, la fluorescencia tiene lugar *sólo* a λ_3 , independientemente de que las radiaciones de longitud de onda λ_1 o λ_2 sean las responsables de la excitación. La quinina proporciona un ejemplo clásico de este tipo de comportamiento (véase Problema 15-11); esta sustancia, presente en la naturaleza, posee dos bandas de excitación analíticamente útiles, una centrada a 250 nm y la otra a 350 nm. Sin embargo, independientemente de la longitud de onda utilizada para excitar la molécula, la longitud de onda del máximo de emisión es 450 nm (véase Fig. 15-2).

Los mecanismos del proceso de conversión interna $S_1 \rightarrow S_0$ que se muestra en la Figura 15-1 no se entienden bien. Los niveles vibracionales del estado fundamental se pueden solapar con los del primer estado electrónico excitado; bajo tales circunstancias, la desactivación ocurrirá rápidamente por el mecanismo antes descrito. Esta situación preva-

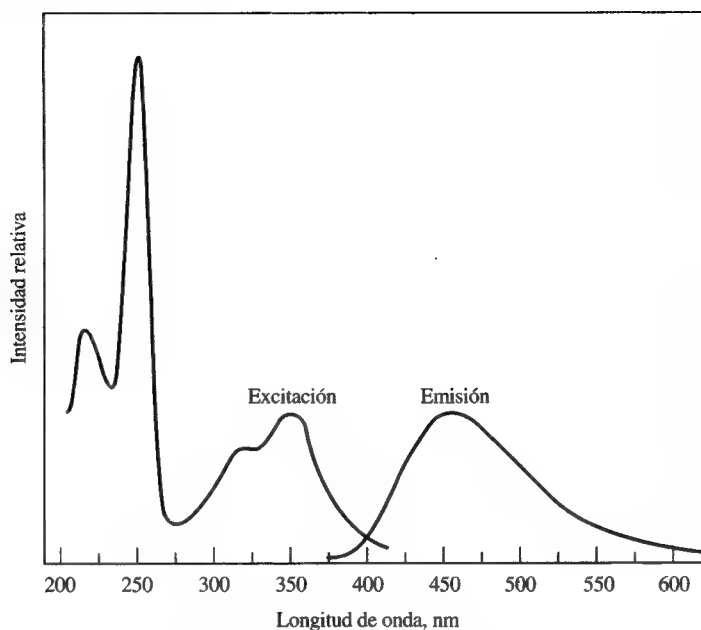


Figura 15-2. Espectros de excitación y emisión de una disolución de quinina.

lece, por ejemplo, en los compuestos alifáticos, y explica el hecho de que estas especies rara vez emiten fluorescencia; en esta clase de compuestos, la desactivación por transferencia de energía a través de los niveles vibracionales solapados tiene lugar tan rápidamente que no hay tiempo para que tenga lugar la fluorescencia.

La conversión interna puede también dar lugar al fenómeno de la *predisociación*. En este caso, el electrón se mueve desde un estado electrónico más alto hacia un nivel vibracional superior de un estado electrónico más bajo en el que la energía vibracional es lo suficientemente grande como para provocar la ruptura de un enlace. En una molécula grande, hay una probabilidad apreciable de que existan enlaces con fuerzas menores que la energía de excitación electrónica de los cromóforos. La ruptura de estos enlaces puede ocurrir como consecuencia de la absorción por un cromóforo, seguida de la conversión interna de la energía electrónica a la energía vibracional, asociada con el enlace débil.

La *predisociación* se diferenciaría de la *disociación* en que en esta última, la radiación absorbida excita al electrón de un cromóforo directamente a un nivel vibracional suficientemente alto para provocar la ruptura del enlace del grupo cromóforo; no incluye la conversión interna. Los procesos de disociación también compiten con los procesos de fluorescencia.

Conversión externa

La desactivación de un estado electrónico excitado puede incluir la interacción y la transferencia de energía entre la molécula excitada y el disolvente u otros solutos. Estos procesos se llaman *conversión externa o amortiguación colisional*. La evidencia de la conversión externa incluye el marcado efecto que ejerce el disolvente sobre la intensidad de fluorescencia; además, aquellas condiciones que tienden a reducir el número de colisiones entre partículas (baja temperatura y elevada viscosidad) tienden, generalmente, a aumentar la fluorescencia. Los detalles de los procesos de conversión externa no se conocen bien.

Las transiciones no radiantes al estado fundamental desde los estados excitados singulete y triplete más bajos (Fig. 15-1) incluyen, probablemente, conversiones externas al igual que conversiones internas.

Cruce entre sistemas

El *cruce entre sistemas* es un proceso en el cual se invierte el espín de un electrón excitado y da como resultado un cambio en la multiplicidad de la molécula. Al igual que en la conversión interna, la probabilidad de esta transición aumenta si los niveles vibracionales de los dos estados se solapan. La transición singulete/triplete que se muestra en la

Figura 15-1 es un ejemplo; aquí, el estado vibracional singulete más bajo se solapa con uno de los niveles vibracionales triplete más elevados y así es más probable un cambio de espín.

El cruce entre sistemas es más común en moléculas que contienen átomos pesados, como son el yodo o el bromo (*efecto del átomo pesado*). Los acoplamientos espín/orbital se hacen grandes en presencia de tales átomos y, de ese modo, se favorece un cambio en el espín. La presencia de especies paramagnéticas en la disolución, como el oxígeno molecular, también favorece el cruce entre sistemas y consecuentemente disminuye la fluorescencia.

Fosforescencia

La desactivación del estado electrónico excitado también puede incluir la fosforescencia. Después del cruce entre sistemas a un estado triplete excitado, la desactivación posterior puede tener lugar por conversión interna o externa o por fosforescencia. Una transición triplete $\rightarrow$ singulete es mucho menos probable que una conversión singulete/singulete; como se ha dicho, el tiempo de vida medio de un estado triplete excitado respecto a la emisión oscila entre 10^{-4} y 10 s o más. Por tanto, la emisión causada por una transición de este tipo puede persistir durante algún tiempo después que la irradiación se haya interrumpido.

Las conversiones externas e internas compiten con tanto éxito con la fosforescencia que este tipo de emisión se observa normalmente sólo a bajas temperaturas, en medios altamente viscosos o por moléculas que están adsorbidas sobre superficies sólidas.

15A-4. Variables que afectan a la fluorescencia y a la fosforescencia

Tanto la estructura molecular como el entorno químico van a influir en que una sustancia sea o no luminiscente; estos factores también determinan la intensidad de emisión cuando tiene lugar la fotoluminiscencia. En este apartado se consideran brevemente los efectos de algunas de estas variables.

Rendimiento cuántico

El *rendimiento cuántico*, o la *eficacia cuántica*, de fluorescencia o de fosforescencia es simplemente

la relación entre el número de moléculas que emiten luminiscencia respecto al número total de moléculas excitadas. Para moléculas altamente fluorescentes como la fluoresceína, la eficacia cuántica, bajo determinadas condiciones, se aproxima a la unidad. Las especies químicas que no presentan una fluorescencia apreciable tienen eficacias que se aproximan a cero.

La Figura 15-1 y la discusión sobre los procesos de desactivación sugieren que el rendimiento cuántico de fluorescencia ϕ para un compuesto se puede calcular a partir de las constantes de velocidad relativas k_x de los procesos por los que el estado singulete excitado más bajo se desactiva —a saber, fluorescencia (k_f), cruce entre sistemas (k_{ces}), conversión externa (k_{ce}), conversión interna (k_{ci}), predisociación (k_{pd}) y disociación (k_d)—. Estas relaciones se puede expresar por la ecuación

$$\phi = \frac{k_f}{k_f + k_{ces} + k_{ce} + k_{ci} + k_{pd} + k_d} \quad (15-1)$$

donde los términos k son las constantes de velocidad respectivas para los diversos procesos antes enumerados.

La Ecuación 15-1 permite una interpretación cualitativa de muchos de los factores estructurales y del entorno que influyen en la intensidad de fluorescencia. Aquellas variables que conducen a valores altos para la constante de velocidad de la fluorescencia k_f y a valores bajos para los otros términos k exaltan la fluorescencia. La magnitud de k_f , la constante de velocidad de la predisociación k_{pd} y la constante de velocidad de la disociación k_d dependen principalmente de la estructura química; el resto de constantes están fuertemente influenciadas por el entorno y en menor medida por la estructura.

Tipos de transiciones en fluorescencia

Es importante resaltar que la fluorescencia rara vez es consecuencia de la absorción de radiación ultravioleta de longitud de onda menor de 250 nm, ya que tal radiación es suficientemente energética como para producir la desactivación de los estados excitados por predisociación o disociación. Por ejemplo, una radiación de 200 nm corresponde a aproximadamente 140 kcal/mol; la mayoría de las moléculas tienen al menos algún enlace que se puede romper con energías de esta magnitud. Como consecuencia, rara vez se observa fluores-

cencia debida a transiciones $\sigma^* \rightarrow \sigma$, en cambio, este tipo de emisión está asociada a los procesos menos energéticos $\pi^* \rightarrow \pi$ y $\pi^* \rightarrow n$ (véase la Figura 14-3, página 356, para las energías relativas asociadas con estas transiciones).

Como ya se ha dicho, una molécula en su estado electrónico excitado normalmente pasa a su *estado excitado más bajo* mediante una serie de relajaciones vibracionales rápidas y conversiones internas que no producen emisión de radiación. De esta manera, la fluorescencia surge, generalmente, de una transición desde el nivel vibracional más bajo del primer estado electrónico excitado a uno de los niveles vibracionales del estado electrónico fundamental. Así, para la mayoría de los compuestos fluorescentes, la radiación se produce por una transición $n \rightarrow \pi^*$ o $\pi \rightarrow \pi^*$, dependiendo de cuál de ellas sea la menos energética.

Eficacia cuántica y tipo de transición

Empíricamente se observa que la fluorescencia se encuentra con más frecuencia en los compuestos en los que la transición de más baja energía es del tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ que en aquellos compuestos en los que la transición de menor energía es del tipo $n \rightarrow \pi^*$; es decir, la eficacia cuántica es mayor para las transiciones $\pi^* \rightarrow \pi$.

La mayor eficacia cuántica asociada a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ se puede explicar de dos maneras. Primero, la absorptividad molar de una transición $\pi \rightarrow \pi^*$ es normalmente de 100 a 1.000 veces superior que a la de un proceso $n \rightarrow \pi^*$ y este valor representa una medida de la probabilidad de la transición en ambas direcciones. Así, el tiempo de vida inherente asociado con una transición $\pi \rightarrow \pi^*$ es más corto (10^{-9} a 10^{-7} s comparado con 10^{-7} a 10^{-5} s para una transición $n \rightarrow \pi^*$) y k_f en la Ecuación 15-1 es mayor.

Consideraciones termodinámicas sugieren que la constante de velocidad del cruce entre sistemas k_{ces} es menor para estados excitados $\pi \rightarrow \pi^*$, ya que la diferencia de energía entre los estados singulete/triplete es grande; esto es, se requiere más energía para desaparecer los electrones del estado excitado π^* . Como consecuencia, el solapamiento de los niveles vibracionales del triplete con los del estado singulete es menor y la probabilidad de que ocurra un cruce entre sistemas es menor.

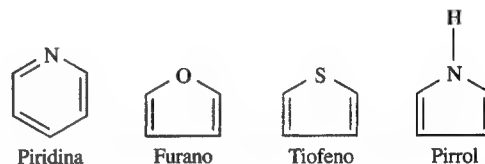
En resumen, la fluorescencia está más asociada con transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$, ya que tales transiciones

presentan tiempos de vida medios más cortos (k_f es mayor) y porque es menos probable que tengan lugar los procesos de desactivación que compiten con la fluorescencia.

Fluorescencia y estructura

La fluorescencia más intensa y la más útil es la que presentan los compuestos que contienen grupos funcionales aromáticos con transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ de baja energía. Los compuestos que contienen grupos carbonilo en estructuras alifáticas y alicíclicas o estructuras con dobles enlaces altamente conjugados también pueden presentar fluorescencia, pero el número de estos compuestos es pequeño comparado con el número de sistemas aromáticos.

La mayoría de los hidrocarburos aromáticos no sustituidos son fluorescentes en disolución, la eficacia cuántica normalmente aumenta con el número de anillos y con su grado de condensación. Los heterociclos sencillos, como la piridina, el furano, el tiofeno y el pirrol,



no presentan fluorescencia; por otro lado, las estructuras condensadas con éstas normalmente sí la presentan. En los heterociclos con nitrógeno, se cree que la transición electrónica de más baja energía implica a un sistema $n \rightarrow \pi^*$ que rápidamente se transforma en un estado triplete e impide la fluorescencia. Sin embargo, la condensación de anillos bencénicos para dar núcleos heterocíclicos, da lugar a un aumento en la absorptividad molar del pico de absorción. En estas estructuras, el tiempo de vida del estado excitado es más corto, así, se observa fluorescencia en compuestos como la quinolina, la isoquinolina y el indol.



La sustitución en el anillo bencénico provoca desplazamientos en la longitud de onda de los máxi-

TABLA 15-1. Efecto de los sustituyentes en la fluorescencia del benceno^a

Compuesto	Fórmula	Longitud de onda de fluorescencia, nm	Intensidad de fluorescencia relativa
Benceno	C_6H_6	270-310	10
Tolueno	$C_6H_5CH_3$	270-320	17
Propilbenceno	$C_6H_5C_3H_7$	270-320	17
Fluorobenceno	C_6H_5F	270-320	10
Clorobenceno	C_6H_5Cl	275-345	7
Bromobenceno	C_6H_5Br	290-380	5
Yodobenceno	C_6H_5I	—	0
Fenol	C_6H_5OH	285-365	18
Ion fenolato	$C_6H_5O^-$	310-400	10
Anisol	$C_6H_5OCH_3$	285-345	20
Anilina	$C_6H_5NH_2$	310-405	20
Ion anilinio	$C_6H_5NH_3^+$	—	0
Ácido benzoico	C_6H_5COOH	310-390	3
Benzonitrilo	C_6H_5CN	280-360	20
Nitrobenceno	$C_6H_5NO_2$	—	0

^a En disolución de etanol.

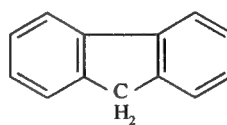
mos de absorción y los correspondientes cambios en los picos de fluorescencia. Además, la sustitución afecta frecuentemente a la eficacia de la fluorescencia; alguno de estos efectos se ilustran con los datos de los derivados bencénicos de la Tabla 15-1.

La influencia de la introducción de halógenos es sorprendente; se piensa que el descenso en la fluorescencia al aumentar el número atómico del halógeno es debido, en parte, al efecto del átomo pesado (página 387), que aumenta la probabilidad para el cruce entre sistemas hacia el estado triplete. Se cree que la predisociación juega un papel importante tanto en el yodobenceno como en los nitroderivados; estos compuestos tienen enlaces de fácil ruptura que pueden absorber la energía de excitación seguida de una conversión interna.

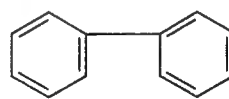
La adición de un ácido carboxílico o de un grupo carbonilo en un anillo aromático generalmente inhibe la fluorescencia. En estos compuestos, la energía de la transición $n \rightarrow \pi^*$ es menor que la de la transición $\pi \rightarrow \pi^*$; como se ha señalado anteriormente, el rendimiento de la fluorescencia es normalmente menor para el sistema del primer tipo.

Efecto de la rigidez estructural

Empíricamente se encuentra que la fluorescencia se ve particularmente favorecida en moléculas que poseen estructuras rígidas. Por ejemplo, las eficacias cuánticas para el fluoreno y el bifenilo son próximas a 1,0 y 0,2, respectivamente, bajo condiciones de medida similares. La diferencia en el comportamiento parece ser, en gran medida,



Fluoreno

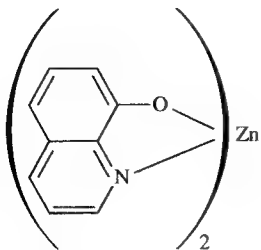


Bifenilo

el resultado de un aumento en la rigidez proporcionado por el puente que forma el grupo metileno en el fluoreno. Se pueden citar muchos ejemplos similares.

También se ha recurrido a la influencia de la rigidez estructural para explicar el aumento de la fluorescencia de ciertos agentes quelantes orgánicos cuando están formando un complejo con un ion metálico. Por ejemplo, la intensidad de fluorescen-

cia de la 8-hidroxiquinolina es mucho menor que la de su complejo con cinc:



La falta de rigidez de una molécula probablemente provoca un aumento de la velocidad de conversión interna (k_{ci} en la Ecuación 15-1) y el correspondiente aumento en la probabilidad de desactivación no radiante. Una parte de una molécula no rígida puede sufrir vibraciones de baja frecuencia respecto a sus otras partes y tales movimientos indudablemente explican ciertas pérdidas de energía.

Efectos de la temperatura y del disolvente

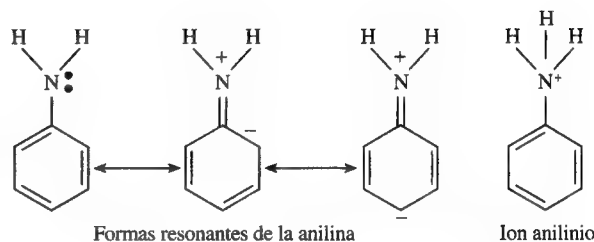
La eficacia cuántica de fluorescencia disminuye en la mayoría de las moléculas al aumentar la temperatura, ya que al aumentar la frecuencia de las colisiones cuando la temperatura es elevada aumenta la probabilidad de desactivación por conversión externa. Una disminución en la viscosidad del disolvente también aumenta la probabilidad de la conversión externa y conduce al mismo resultado.

La fluorescencia de una molécula se reduce en presencia de disolventes que contienen átomos pesados o de solutos con dichos átomos en su estructura; como por ejemplo, el tetrabromuro de carbono y el yoduro de etilo. El efecto es similar al observado cuando se introducen, por sustitución, átomos pesados en compuestos fluorescentes; las interacciones espín-orbital desembocan en un aumento en la velocidad de formación del triplete y en la correspondiente disminución de la fluorescencia. Cuando se desea exaltar la fosforescencia se incorporan con frecuencia a los disolventes compuestos que contienen átomos pesados

Efecto del pH en la fluorescencia

La fluorescencia de un compuesto aromático con sustituyentes ácidos o básicos en el anillo depende normalmente del pH. Tanto la longitud de onda como la intensidad de emisión son, probablemente,

diferentes para las formas ionizada y no ionizada del compuesto. La Tabla 15-1 ilustra este efecto con datos para el fenol y la anilina. Los cambios en la emisión de los compuestos de este tipo surgen del distinto número de especies resonantes asociadas con las formas ácidas y básicas de las moléculas. Por ejemplo, la anilina tiene varias formas resonantes mientras que el ion anilinio sólo una. Esto es,



Cuanto mayor es el número de formas resonantes, mayor es la estabilidad del primer estado excitado; la consecuencia es una fluorescencia en la región ultravioleta.

La influencia del pH en la fluorescencia de ciertos compuestos se ha utilizado para la detección de puntos finales en valoraciones ácido/base. Por ejemplo, la fluorescencia de la forma fenólica del ácido 1-naftol-4-sulfónico no es detectable por el ojo humano, ya que tiene lugar en la región ultravioleta. Sin embargo, cuando el compuesto se convierte en ion fenolato debido a la adición de una base, el pico de emisión se desplaza hacia longitudes de onda de la región visible donde puede verse claramente. Es interesante resaltar que este cambio tiene lugar a un pH diferente al esperado por la constante de disociación del compuesto. La explicación de esta discrepancia es que la constante de disociación ácida para la molécula *excitada* difiere de la constante de la misma especie en el estado fundamental. Los cambios en las constantes de disociación de ácidos y bases con la excitación son normales y algunas veces son hasta cuatro o cinco órdenes de magnitud superiores.

Estas observaciones sugieren que los procedimientos analíticos basados en las medidas de fluorescencia frecuentemente requieren un control minucioso del pH.

Efecto del oxígeno disuelto

La presencia de oxígeno disuelto suele reducir la intensidad de fluorescencia de una disolución. Este

efecto puede ser el resultado de una oxidación de las especies fluorescentes inducida fotoquímicamente. Sin embargo, con más frecuencia la amortiguación (*quenching*) tiene lugar como consecuencia de las propiedades paramagnéticas del oxígeno molecular, que favorecen el cruce entre sistemas y la conversión de las moléculas excitadas al estado triplete. Otras especies paramagnéticas también tienden a amortiguar la fluorescencia.

Efecto de la concentración en la intensidad de fluorescencia

La potencia de la emisión fluorescente F es proporcional a la potencia radiante del haz de excitación absorbido por el sistema. Esto es,

$$F = K'(P_0 - P) \quad (15-2)$$

donde P_0 es la potencia del haz que incide sobre la disolución y P es su potencia después de atravesar una longitud b del medio. La constante K' depende de la eficacia cuántica del proceso de fluorescencia. Con el objeto de relacionar F con la concentración c de la especie fluorescente, se escribe la ley de Beer de la forma

$$\frac{P}{P_0} = 10^{-\epsilon bc} \quad (15-3)$$

donde ϵ es la absorptividad molar de las moléculas fluorescentes y ϵbc es la absorbancia, A . Sustituyendo la Ecuación 15-3 en la Ecuación 15-2, se obtiene

$$F = K'P_0(1 - 10^{-\epsilon bc}) \quad (15-4)$$

El término exponencial de la Ecuación 15-4 puede desarrollarse como una serie de Maclaurin

$$F = K'P_0 \left[2,303\epsilon bc - \frac{(2,303\epsilon bc)^2}{2!} + \frac{(2,303\epsilon bc)^3}{3!} \dots \right] \quad (15-5)$$

Siempre que $2,303 \epsilon bc = A < 0,05$, los términos posteriores del corchete son despreciables respecto

al primero; en estas condiciones, el error relativo máximo cometido al despreciar todos los términos excepto el primero es de 0,13 por 100. Por ello, se puede escribir

$$F = 2,3 K' \epsilon bc P_0 \quad (15-6)$$

o cuando P_0 es constante,

$$F = Kc \quad (15-7)$$

Así, la representación gráfica de la potencia fluorescente de una disolución frente a la concentración de las especies emisoras debería ser lineal a bajas concentraciones. Cuando c es tan elevada que la absorbancia es mayor que aproximadamente 0,05, los términos de mayor orden de la Ecuación 15-5 adquieren importancia y la linealidad se pierde; entonces F toma un valor inferior al obtenido en la extrapolación de la línea recta de la representación gráfica.

Otros dos factores, responsables también de las desviaciones negativas de la linealidad a elevadas concentraciones, son la *autoamortiguación* y la *autoabsorción*. El primero es el resultado de colisiones entre moléculas excitadas. La transferencia de energía por vía no radiante sucede, quizás, de una manera análoga, a como ocurre la transferencia de energía a las moléculas del disolvente en una conversión externa. Se puede esperar que la autoamortiguación aumente con la concentración debido a la mayor probabilidad de que tengan lugar colisiones.

La autoabsorción tiene lugar cuando la longitud de onda de emisión se solapa con un pico de absorción; la fluorescencia, entonces, disminuye porque la radiación emitida atraviesa la disolución y es reabsorbida por otras moléculas fluorescentes.

Los efectos de estos fenómenos son tales que pueden hacer que aparezca un máximo en la representación gráfica de la potencia fluorescente frente a la concentración.

15A-5. Espectros de emisión y de excitación

La Figura 15-3 muestra los tres tipos de espectros fotoluminiscentes del fenantreno. Los espectros de *excitación* (E en la figura) se obtienen midiendo la intensidad luminiscente a una longitud de onda fija mientras se varía la longitud de onda de excitación.

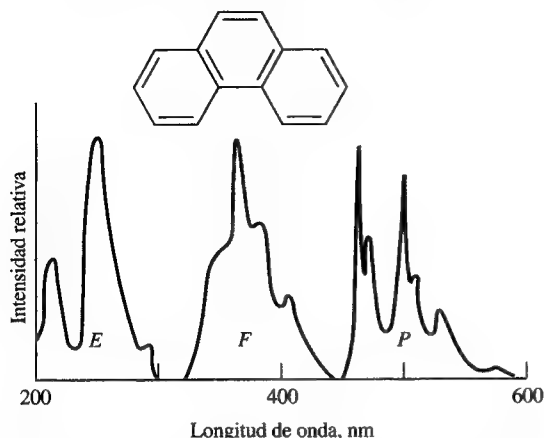


Figura 15-3. Espectros del fenantreno: E, excitación; F, fluorescencia; P, fosforescencia.

Como la primera etapa en la generación de la emisión fluorescente es la absorción de radiación, para crear los estados excitados, un espectro de excitación es prácticamente idéntico a un espectro de absorción realizado bajo las mismas condiciones. Por otro lado, los espectros de fluorescencia y de fosforescencia (F y P, respectivamente), suponen la excitación a una longitud de onda fija mientras se registra la intensidad de emisión como función de la longitud de onda.

Como ya se ha señalado, la fotoluminiscencia normalmente tiene lugar a longitudes de onda más largas que las longitudes de onda de excitación. Además, las bandas fosforescentes se encuentran, en general, a longitudes de onda más largas que las bandas de fluorescencia, ya que, en la mayoría de los casos, el estado triplete excitado tiene menor energía que el correspondiente estado singulete. De hecho, la diferencia de longitudes de onda entre los dos proporciona una medida útil de la diferencia de energía entre los estados excitados singulete y triplete.

15B. INSTRUMENTOS PARA LA MEDIDA DE LA FLUORESCENCIA Y DE LA FOSFORESCENCIA

Los distintos componentes de los instrumentos para la medida de la fotoluminiscencia son similares a los que se encuentran en los fotómetros o

espectrofotómetros ultravioleta/visible. La Figura 15-4 muestra una configuración característica de estos componentes en los *fluorómetros* y los *espectrofluorímetros*. Casi todos los instrumentos de fluorescencia utilizan ópticas de doble haz tal como se muestra, para compensar las fluctuaciones en la potencia de la fuente. El haz de la muestra pasa primero a través de un filtro o un monocromador de excitación, que transmite la radiación que provocará la fluorescencia pero excluye o limita la radiación de la longitud de onda de la emisión fluorescente. La fluorescencia se propaga desde la muestra en todas las direcciones pero lo más conveniente es observar la que forma un ángulo recto con el haz de excitación; a otros ángulos, la dispersión producida en la disolución y en las paredes de las cubetas aumenta y se pueden cometer grandes errores en la medida de la intensidad. La radiación emitida llega a un fotodetector después de haber pasado por un segundo filtro o monocromador que aísla la fluorescencia para su medida.

El haz de referencia pasa a través de un atenuador que reduce su potencia a aproximadamente la de la radiación fluorescente (normalmente la potencia se reduce en un factor de 100 o más). Las señales procedentes del fotomultiplicador de la muestra y del de referencia se dirigen a un amplificador diferencial cuya salida se visualiza en un medidor o en un registro. Algunos instrumentos de fluorescencia son de tipo nulo; esta condición se

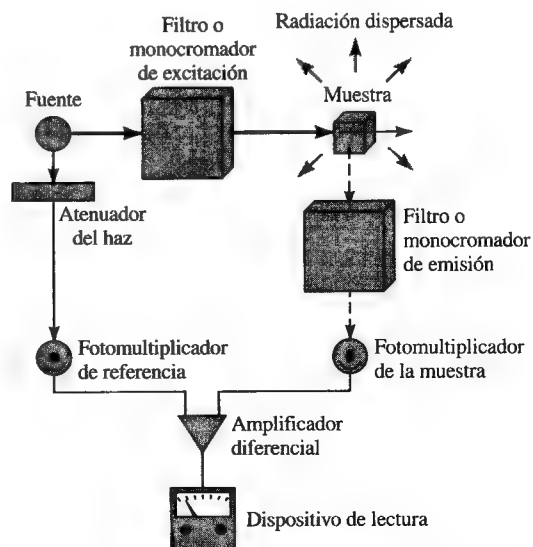


Figura 15-4. Componentes de un fluorómetro o un espectrofluorímetro.

consigue con atenuadores ópticos o eléctricos. Los instrumentos más modernos utilizan un circuito divisor analógico o un sistema de adquisición de datos digital seguido del tratamiento de los datos para obtener la relación entre la intensidad de la emisión fluorescente y la intensidad de la fuente de radiación.

La sofisticación, las características de funcionamiento y el coste de los fluorómetros y de los espectrofluorímetros difieren tanto de unos a otros como ocurre con los correspondientes instrumentos para las medidas de absorción. Los fluorómetros son análogos a los fotómetros de absorción, en ambos se utilizan filtros para seleccionar las longitudes de onda de los haces de excitación y emisión. Los espectrofluorímetros son de dos tipos. Los primeros utilizan un filtro adecuado para seleccionar la radiación de excitación y un monocromador de red o de prisma para obtener el espectro de fluorescencia. Se pueden adquirir varios espectrofotómetros comerciales con adaptadores que permiten utilizarlos como espectrofluorímetros.

Los verdaderos espectrofluorímetros son instrumentos especializados equipados con dos monocromadores; uno de ellos permite variar la longitud de onda de excitación y el otro permite obtener un espectro de emisión. La Figura 15-5a muestra un espectro de excitación del antraceno en el que la emisión fluorescente se midió a una longitud de onda fija, mientras se variaba la longitud de onda de excitación. Si se efectúan las correcciones adecuadas para compensar las variaciones de la intensidad de la señal de salida de la fuente y de la respuesta del detector en función de la longitud de onda, se obtiene un espectro de excitación absoluto que es muy semejante al espectro de absorción.

La Figura 15-5b muestra el espectro de emisión de fluorescencia del antraceno; aquí, la longitud de onda de excitación se mantuvo constante mientras se hacía un barrido de las longitudes de onda de emisión. Estos dos espectros son como una imagen especular uno del otro, ya que las diferencias de energía vibracional para los estados electrónicos fundamental y excitado son más o menos las mismas (véase Fig. 15-1).

La selectividad que proporcionan los espectrofluorímetros es de capital importancia en las investigaciones relacionadas con las características electrónicas y estructurales de las moléculas y es valiosa en los trabajos analíticos cualitativos y cuantitativos. Sin embargo, para medidas de concentración, la información proporcionada con ins-

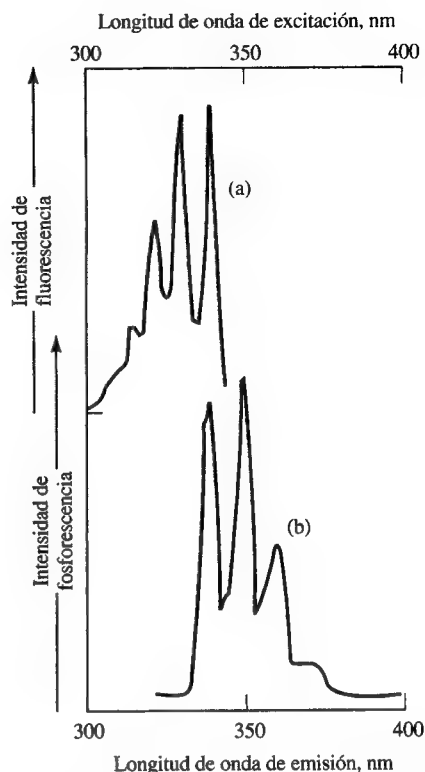


Figura 15-5. Espectros de fluorescencia de una disolución de 1 ppm de antraceno en alcohol: (a) espectro de excitación; (b) espectro de emisión.

trumentos más sencillos es a menudo completamente satisfactoria. De hecho, los fluorómetros, relativamente baratos, que han sido diseñados específicamente para solventar los problemas de medida propios de los métodos fluorescentes, son a menudo tan específicos y selectivos como los espectrofotómetros de absorción modificados.

La discusión que sigue está enfocada, en gran parte, a instrumentos sencillos para el análisis por fluorescencia.

15B-1. Componentes de los fluorómetros y de los espectrofluorímetros

Los componentes de los fluorómetros y de los espectrofluorímetros difieren sólo en detalles de los que componen los fotómetros y los espectrofotómetros; sólo es necesario considerar estas diferencias.

Fuentes

En la mayoría de las aplicaciones se necesitan fuentes más intensa que las lámparas de wolframio

o hidrógeno utilizadas en las medidas de absorción. De hecho, como muestra la Ecuación 15-6, la magnitud de la señal de salida y, por tanto, la sensibilidad, es directamente proporcional a la potencia de la fuente P_0 .

Lámparas. La lámpara más común para los fluorómetros de filtro es la lámpara de arco de mercurio a baja presión equipada con una ventana de sílice fundida. Esta fuente emite líneas útiles para producir la excitación previa a la fluorescencia a 254, 302, 313, 546, 578, 691 y 773 nm. Las líneas individuales se pueden aislar con filtros de interferencia o absorción adecuados. Ya que, en la mayoría de los compuestos fluorescentes, la fluorescencia se puede inducir con distintas longitudes de onda, al menos una de las líneas del mercurio suele resultar adecuada.

Para los espectrofluorímetros, en donde se requiere una fuente de radiación continua, normalmente se utiliza una lámpara de arco de xenón de alta presión, de 75 a 450 W. Estas lámparas requieren una fuente de alimentación potente, capaz de producir corrientes continuas de 5 a 20 A y de 15 a 30 V. El espectro de una lámpara de arco de xenón es continuo desde aproximadamente 300 a 1.300 nm. El espectro se parece al de un cuerpo negro (véase Fig. 6-18, página 141). En algunos instrumentos, se obtienen destellos espaciados regularmente en el tiempo mediante la descarga de un condensador a través de la lámpara a frecuencia constante; de esta manera se producen impulsos de luz de gran intensidad. Además, las señales de salida de los detectores son, así, señales de corriente alterna, que pueden ser fácilmente amplificadas y procesadas.

Láseres. Desde los comienzos de los años setenta, se utilizan también diversos tipos de láseres como fuentes de excitación para medidas de fotoluminiscencia. Un particular interés tienen los láseres sintonizables de colorante que utilizan, como sistema de bombeo, un láser de nitrógeno pulsante o un láser de Nd:YAG.

La mayoría de los espectrofluorímetros comerciales utilizan lámparas (ya descritas) como fuentes, por ser menos caras y menos complicadas de uso. Sin embargo, las fuentes de láser ofrecen importantes ventajas en determinados casos: por ejemplo, (1) cuando las muestras son muy pequeñas como en cromatografía con microcolumnas y en electroforesis capilar donde la cantidad de

muestra es de un microlitro o menor; (2) en los sensores de control remoto, como en la detección fluorimétrica de radicales hidroxilo en la atmósfera o de clorofila en seres vivos acuáticos, donde la naturaleza colimada de los haces de láser es vital; o (3) cuando se requiere una radiación de excitación altamente monocromática para minimizar los efectos de las interferencias fluorescentes.

Filtros y monocromadores

Tanto los filtros de interferencia como los de absorción se han utilizado en los fluorómetros para la selección de la longitud de onda del haz de excitación y de la radiación fluorescente resultante. La mayoría de los espectrofluorímetros están equipados con al menos uno y a veces dos monocromadores de red.

Detectores

La señal de fluorescencia típica es de baja intensidad, por ello, para su medida se necesitan ganancias de amplificador elevadas. Los tubos fotomultiplicadores son los detectores más utilizados en instrumentos de fluorescencia sensibles. Suelen trabajar en la modalidad de recuento de fotones para mejorar la relación señal/ruido (véase página 188). También se utiliza, a veces, la refrigeración de los detectores para mejorar la relación señal/ruido. También se han propuesto, para los espectrofluorímetros, los detectores de diodos en serie y de transferencia de carga². Este tipo de detectores permite el registro rápido de los espectros de excitación y de emisión y particularmente son útiles en cromatografía y en electroforesis.

Cubetas y compartimentos para las cubetas

Para medidas de fluorescencia se utilizan tanto cubetas cilíndricas como rectangulares, fabricadas con vidrio o con sílice. Se debe tener cuidado en el diseño del compartimento de la cubeta para reducir la cantidad de radiación dispersada que llega hasta el detector. Con este propósito, a menudo, se introducen deflectores en el compartimento. Incluso más importante que en las medidas de absorbancia, es evitar dejar las huellas dactilares en las

² Véase Y. Talmi, *Appl. Spectrosc.*, **1982**, 36, 1; P. M. Ep-person, R. D. Jalkian, y M. B. Denton, *Anal. Chem.*, **1989**, 61, 282.

cubetas, ya que la grasa de la piel con frecuencia fluoresce.

15B-2. Diseños de instrumentos

Fluorómetros

Los fluorómetros de filtro proporcionan una forma relativamente simple y barata de llevar a cabo análisis cuantitativos por fluorescencia. Como ya se ha señalado, para seleccionar las longitudes de onda de la radiación de excitación y de emisión se utilizan filtros de interferencia y de absorción. Generalmente, los fluorómetros son compactos, robustos y fáciles de usar.

La Figura 15-6 muestra un esquema de un fluorómetro de filtros característico que consta de una lámpara de mercurio para la excitación de la fluorescencia y un par de tubos fotomultiplicadores como detectores. El haz que sale de la fuente se divide cerca de ella en un haz de referencia y en un haz de muestra. El haz de referencia se atenúa mediante el disco de apertura hasta que su intensidad sea aproximadamente la misma que la intensidad de fluorescencia. Ambos haces pasan a través del filtro primario y a continuación el haz de referencia se refleja hacia el tubo fotomultiplicador de referencia. El haz de muestra se enfoca sobre la muestra mediante un par de lentes y provoca la emisión de fluorescencia. La radiación emitida pasa a través de un segundo filtro que posteriormente se enfoca sobre un segundo tubo fotomultiplicador. Las

señales de salidas eléctricas de los dos detectores se dirigen hacia un divisor analógico, para obtener la relación entre las intensidades de la muestra y de referencia, que sirve como parámetro analítico.

El instrumento descrito es representativo de la docena o más de fluorómetros comercialmente disponibles. Algunos de éstos son sencillos instrumentos de haz simple. El precio de tales fluorómetros oscila desde pocos cientos de dólares hasta alrededor de los 5.000 dólares.

Espectrofluorímetros

Algunos fabricantes de instrumentos ofertan espectrofluorímetros capaces de obtener los espectros de excitación y los de emisión. En la Figura 15-7 se muestra el diseño óptico de uno de ellos, que utiliza dos monocromadores de red. La radiación que procede del primer monocromador se divide en dos, una parte se dirige hacia el fotomultiplicador de referencia y la otra hacia la muestra. La radiación fluorescente resultante, después de ser dispersada en el segundo monocromador, se detecta en un segundo fotomultiplicador.

Un instrumento como el que se muestra en la Figura 15-7 suministra perfectamente espectros satisfactorios para el análisis cuantitativo. Sin embargo, los espectros de emisión obtenidos no son necesariamente comparables con los de otros instrumentos, ya que la señal de salida depende no sólo de la intensidad de fluorescencia sino también de las características de la lámpara, del detector y de los monocromadores. Todas estas caracte-

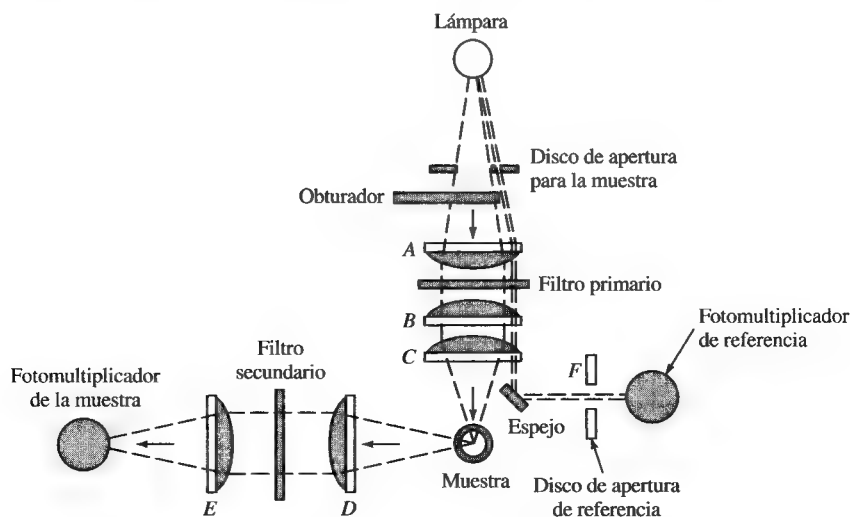


Figura 15-6. Un fluorómetro característico. (Cortesía de Farrand Optical Co., Inc.)

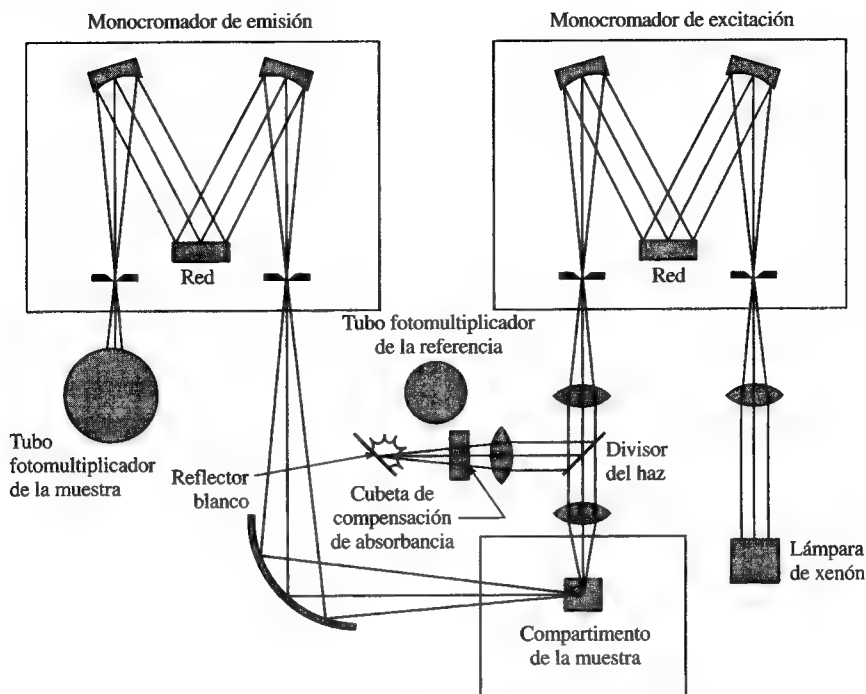


Figura 15-7. Un espectrofluorímetro. (Cortesía de SLM Instruments, Inc., Urbana, IL.)

rísticas instrumentales varían con la longitud de onda y difieren de un instrumento a otro. Se han desarrollado varios métodos para obtener el espectro *corregido*, que es el verdadero espectro de fluorescencia, libre de efectos instrumentales; muchos de los instrumentos comerciales modernos y más sofisticados están preparados para obtener directamente los espectros corregidos³.

Espectrofluorímetros provistos de detectores en serie

Durante las dos últimas décadas se han descrito varios espectrofluorímetros que poseen dispositivos de transferencia de carga y diodos en serie, que obtienen el espectro de fluorescencia en fracciones de segundo⁴. En la Figura 15-8a se ilustra el fundamento del más sofisticado de éstos. En este caso, a

lo largo de la cubeta de la muestra se irradia con un haz de excitación que se ha dispersado en el plano xy mediante un monocromador que ha girado 90 grados con respecto a la rendija de salida. El detector es un dispositivo de acoplamiento de carga bidimensional que ve la radiación de excitación dispersada en el plano xy y la radiación dispersada en el monocromador de emisión en el plano yz . La Figura 15-8b muestra los espectros de excitación y emisión clásicos para una hipotética especie molecular. La Figura 15-8c muestra el *espectro de luminiscencia total* de este compuesto, que es una proyección isométrica, a veces llamada *registro acumulado*, de los espectros de excitación y emisión completos del compuesto obtenidos con la disposición mostrada en la Figura 15-8a. Los espectros totales de este tipo se pueden obtener en pocos segundos o incluso menos y son de particular utilidad para el análisis de mezclas de especies fluorescentes.

Sensores de fluorescencia de fibra óptica

Las fibras ópticas se han utilizado para demostrar que se pueden llevar a cabo distintos análisis por fluorescencia en posiciones muy alejadas de la fuente y del detector. En este caso, la radiación que

³ Para un resumen de los métodos de corrección, véase N. Wotherspoon, G. K. Oster, y G. Oster, *Physical Methods of Chemistry*, A. Weissberger y B. R. Rossiter, Eds., Vol. 1, Parte III B, págs. 460-462 y págs. 473-478. New York: Wiley-Interscience, 1972.

⁴ Véase, por ejemplo, Y. Talmi, D. C. Baker, J. R. Jadamec, y W. A. Saner, *Anal. Chem.*, **1978**, *50*, 936A; D. W. Johnson, J. B. Callis y G. D. Christian, *Anal. Chem.*, **1977**, *49*, 747A; P. M. Epperson, R. D. Jalkian y M. B. Denton, *Anal. Chem.*, **1989**, *61*, 282.

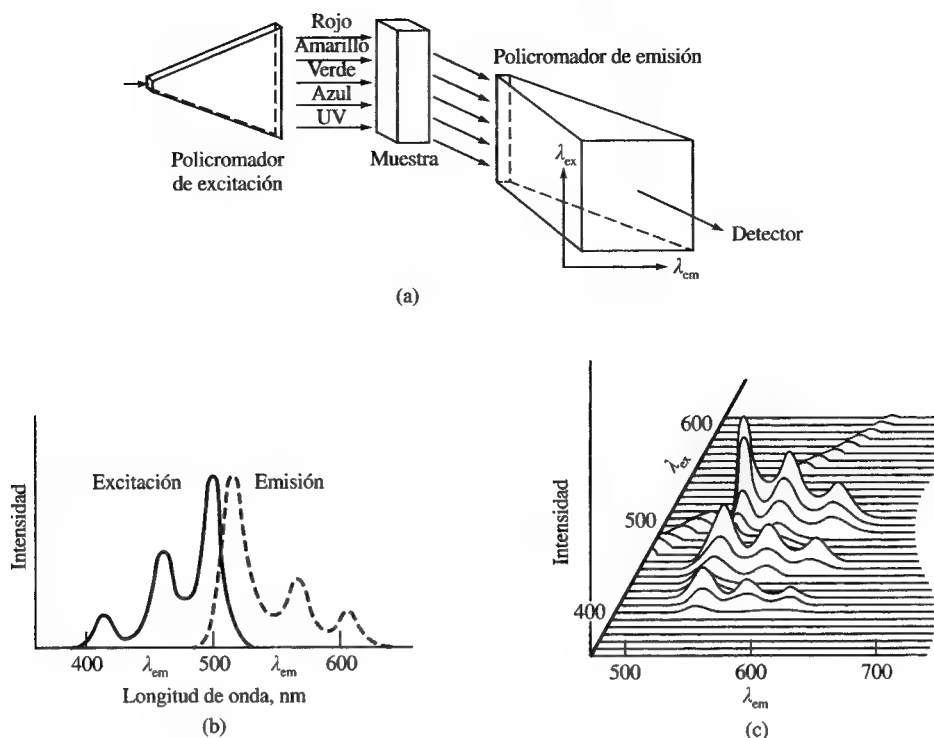


Figura 15-8. (a) Esquema de un sistema óptico para la obtención de un espectro de luminiscencia total con un dispositivo de acoplamiento de carga bidimensional. (Con permiso de G. W. Suter, A. J. Kallir, y U. P. Wild, *Chimia*, **1983**, 37, 413.) (b) Espectros de excitación y emisión de un compuesto hipotético. (c) Espectro de luminiscencia total del mismo compuesto que en b. (Con permiso de D. W. Johnson, J. P. Callis, y G. C. Christian, *Anal. Chem.*, **1977**, 49, 749A.)

procede de una fuente láser viaja a través de una fibra óptica y provoca fluorescencia en las disoluciones de la muestra. Posteriormente, la emisión fluorescente regresa por una segunda fibra óptica al detector para la medida. La aplicabilidad de este tipo de dispositivo se ha extendido a analitos no fluorescentes mediante la inmovilización de un material fluorescente indicador en el extremo de la fibra óptica⁵. En el Apartado 7G se tratan las propiedades de las fibras ópticas y las aplicaciones en la instrumentación química.

Fosforímetros

Los instrumentos que se utilizan para estudios de fosforescencia tienen diseños similares a los fluorómetros y a los espectrofluorímetros antes considerados, sólo difieren en que requieren dos

componentes adicionales⁶. El primero es un dispositivo que irradia alternativamente la muestra y, después de un retraso en el tiempo adecuado, mide la intensidad de fosforescencia. El retraso en el tiempo es necesario para diferenciar la emisión fosforescente de larga vida de la emisión fluorescente de corta vida que podrían originarse en la misma muestra. Se utilizan dispositivos mecánicos y electrónicos y muchos instrumentos de fluorescencia comerciales tienen accesorios para medidas de fosforescencia. Un ejemplo de un tipo de dispositivo mecánico se muestra en la Figura 15-9.

Normalmente, las medidas de fosforescencia se realizan a la temperatura del nitrógeno líquido para prevenir la degradación de la señal de salida por desactivación colisional. Así, tal como se muestra en la Figura 15-9, una de las partes del fosforímetro

⁵ Para un tratamiento sobre los sensores fluorescentes de fibra óptica, véase O. S. Wolfbeis, en *Molecular Luminescence Spectroscopy*, S. G. Schulman, Ed., Parte 2, Capítulo 3. New York: Wiley, 1988.

⁶ Véase R. J. Hurtubise, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 669A; R. J. Hurtubise, *Phosphorimetry: Theory, Instrumentation, and Applications*, Capítulo 3. New York: VCH Publishers, 1990.

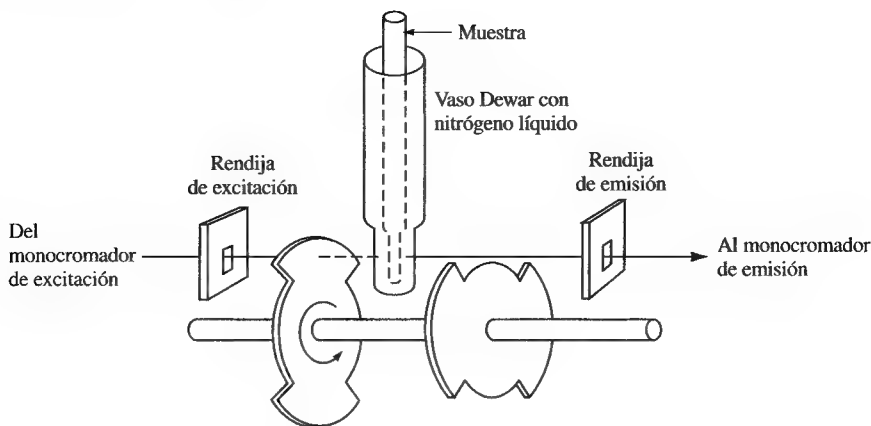


Figura 15-9. Esquema de un dispositivo para producir una excitación intermitente y observar la fosforescencia. (Reproducido con permiso de T. C. O'Haver y J. D. Winefordner, *Anal Chem.*, 1966, 38, 603. Copyright 1966 American Chemical Society.)

suele ser un recipiente Dewar con ventanas de cuarzo. A esta temperatura, el analito existe en forma de un soluto en un vidrio o en un disolvente sólido (el disolvente más común es una mezcla de dietil éter, pentano y etanol).

15B-3. Calibrado del instrumento

Debido a las variaciones de la intensidad de la fuente, de la sensibilidad del detector y de otras variables instrumentales, es imposible obtener, con un fluorómetro o con un espectrofluorímetro dado, exactamente las mismas lecturas para una disolución o un conjunto de disoluciones de un día a otro. Por esta razón, es una práctica habitual calibrar el instrumento y ajustarlo a un nivel de sensibilidad reproducible. El calibrado se suele llevar a cabo con una disolución patrón de un fluoróforo estable. El reactivo más común para este cometido es una disolución patrón de sulfato de quinina de concentración aproximadamente 10^{-5} M. Esta disolución, generalmente, se excita con una radiación de 350 nm y emite radiación a 450 nm. Para otras regiones de longitudes de onda se han descrito otros compuestos.

Perkin-Elmer Corporation ofrece un conjunto de seis patrones de fluorescencia disueltos en una matriz de plástico, que forman unos bloques sólidos estables, que se pueden utilizar indefinidamente sin una conservación especial. Con estos patrones, el instrumento se calibra fácilmente en la región de longitudes de onda que se va a utilizar en el análisis.

15C. APLICACIONES Y MÉTODOS FOTOLUMINISCENTES

Es inherente a los métodos fluorescentes y fosforescentes el ser aplicables a intervalos de concentración más bajos que las medidas espectrofotométricas de absorción y se encuentran entre las técnicas analíticas más sensibles de las que puedan disponer los científicos. El aumento de sensibilidad surge del hecho de que el parámetro relacionado con la concentración en fluorimetría y en fosforimetría F se puede medir independientemente de la potencia de la fuente P_0 . Por el contrario, una medida de absorbancia requiere la evaluación de P_0 y de P , ya que la absorbancia, que es proporcional a la concentración, depende de la relación entre estas dos cantidades. La sensibilidad de un método fluorimétrico puede mejorarse aumentando P_0 o mediante la amplificación adicional de la señal de fluorescencia. Por el contrario, en espectrofotometría, un aumento en P_0 da lugar a un cambio proporcional en P y, por ello, no afecta a la A . Por tanto, los métodos fluorimétricos tienen, generalmente, sensibilidades que son de uno a tres órdenes de magnitud superiores a los correspondientes de absorción. Por otro lado, la precisión y la exactitud de los métodos fotoluminiscentes son habitualmente más pobres que las de los procedimientos espectrofotométricos en un factor entre, quizás, dos y cinco. Generalmente, los métodos fosforescentes son menos precisos que sus correspondientes métodos fluorescentes.

15C-1. Determinación fluorimétrica de especies inorgánicas⁷

Los métodos inorgánicos fluorimétricos son de dos tipos. Los métodos directos que conllevan la formación de un quelato fluorescente y la medida de su emisión. Un segundo grupo, que se basa en el descenso de la fluorescencia que resulta de la acción amortiguadora de la sustancia que va a ser determinada. La última técnica se ha utilizado más en la determinación de aniones.

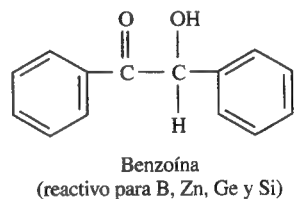
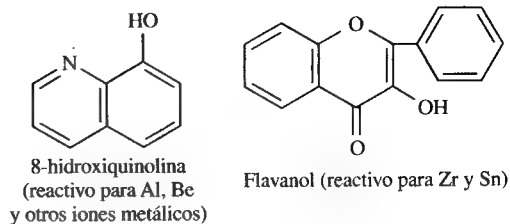
Cationes que forman quelatos fluorescentes

Existen dos factores que limitan enormemente el número de iones de metales de transición que forman quelatos fluorescentes. En primero lugar, muchos de estos iones son paramagnéticos; esta propiedad aumenta la velocidad de cruce entre sistemas al estado triplete. Por tanto, la desactivación por fluorescencia es poco probable, aunque puede observarse fosforescencia. Un segundo factor es que los complejos de los metales de transición se caracterizan por presentar muchos niveles de energía poco espaciados, que aumenta la probabilidad de desactivación por conversión interna. Los iones de los metales que no son de transición son menos susceptibles a los procesos de desactivación; y es para estos elementos, para los que se han desarrollado las principales aplicaciones inorgánicas de la fluorimetría. Hay que señalar que los cationes de los metales que no son de transición son generalmente incoloros y tienden a formar quelatos que también lo son. Por ello, la fluorimetría a menudo complementa a la espectrofotometría.

Reactivos fluorimétricos⁸

Los reactivos fluorimétricos de más éxito en el análisis de cationes son los que presentan estructuras aromáticas con dos o más grupos funcionales dadores que permitan la formación de quelatos con el ion metálico. A continuación se muestran

las estructuras de los cuatro reactivos más corrientes.



En la Tabla 15-2 se presenta una selección de algunos reactivos fluorimétricos y sus aplicaciones.

15C-2. Determinación fluorimétrica de especies orgánicas

El número de aplicaciones del análisis fluorimétrico a especies orgánicas y bioquímicas es impresionante. Por ejemplo, Weissler y White han recopilado los métodos para la determinación de más de 200 sustancias, incluyendo una amplia variedad de compuestos orgánicos, enzimas y coenzimas, agentes medicinales, productos naturales, esteroides y vitaminas⁹. Es incuestionable que las aplicaciones más importantes de la fluorimetría se encuentran en el campo del análisis de productos alimentarios, farmacéuticos, muestras clínicas y

⁷ Para una revisión de la determinación fluorimétrica de especies inorgánicas, véase, A. Fernández-Gutiérrez y A. M. De La Pena, en *Molecular Luminescence Spectroscopy*, Parte 1, Capítulo 4. New York: Wiley, 1985.

⁸ Para un tratamiento más detallado de los reactivos fluorimétricos, véase, G. G. Guilbault, en *Comprehensive Analytical Chemistry*, G. Svehla, Ed., Vol. VIII, Capítulo 2, págs. 167-178. New York: Elsevier, 1977; P. A. St. Johns, en *Trace Analysis*, J. D. Winefordner, Ed., págs. 263-271. New York: Wiley, 1976.

⁹ A. Weissler y C. E. White, *Handbook of Analytical Chemistry*, L. Meites, Ed., págs. 6-182 a 6-196. New York: McGraw-Hill, 1963.

TABLA 15-2. Selección de métodos fluorimétricos para especies inorgánicas

Ion	Reactivo	Longitud de onda, nm		Sensibilidad $\mu\text{g/mL}$	Interferencias
		Absorción	Fluorescencia		
Al^{3+}	Granate de alizarina R	470	500	0,007	Be, Co, Cr, Cu, F^- , NO_3^- , Ni, PO_4^{3-} , Th, Zr
F^-	Complejo de Al con granate de alizarina R (amortiguación)	470	500	0,001	Be, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, PO_4^{3-} , Th, Zr
$\text{B}_4\text{O}_7^{2-}$	Benzoína	370	450	0,04	Be, Sb
Cd^{2+}	2-(<i>o</i> -Hidroxifenil)-benzoxazol	365	Azul	2	NH_3
Li^+	8-Hydroxiquinolina	370	580	0,2	Mg
Sn^{4+}	Flavanol	400	470	0,1	F^- , PO_4^{3-} , Zr
Zn^{2+}	Benzoína	—	Verde	10	B, Be, Sb, Iones coloreados

productos naturales¹⁰. La sensibilidad y la selectividad del método hacen que sea una herramienta particularmente valiosa en estos campos.

15C-3. Métodos fosforimétricos

Los métodos fosforescentes y fluorescentes tienden a ser complementarios, ya que los compuestos fuertemente fluorescentes presentan una débil fosforescencia y viceversa¹¹. Por ejemplo, entre los hidrocarburos aromáticos con anillos condensados, aquellos que contienen átomos pesados como halógenos o azufre, con frecuencia presentan una fuerte fosforescencia; por otro lado, los mismos compuestos sin la presencia del átomo pesado tienden a presentar fluorescencia en lugar de fosforescencia.

La fosforimetría se ha utilizado para determinar una gran variedad de especies orgánicas y bioquímicas que incluyen sustancias como ácidos nucleicos, aminoácidos, pirina y pirimidina, enzimas, hidrocarburos del petróleo y pesticidas. Sin embar-

go, el método no ha alcanzado el uso tan difundido de la fluorimetría, quizás debido a la necesidad de bajas temperaturas y a la, generalmente, peor precisión de las medidas fosforescentes. Por otro lado, es atractiva la mayor selectividad potencial de los procedimientos de fosforescencia. La razón de estas diferencias de comportamiento se debe a que la fosforescencia eficaz necesita el cruce entre sistemas rápido para poblar el estado triplete excitado, que, vuelve a reducir la concentración de moléculas en el singulete excitado y, por tanto, aumenta la intensidad de fosforescencia.

Durante las últimas dos décadas, se ha dedicado un esfuerzo considerable al desarrollo de métodos fosforimétricos que puedan llevarse a cabo a temperatura ambiente. Estos esfuerzos han tomado dos direcciones. La primera se basa en el incremento observado en la fosforescencia de los compuestos adsorbidos en la superficie de sólidos, como puede ser un filtro de papel. En estas aplicaciones, se dispersa una disolución de analito sobre el sólido y se evapora el disolvente. Se mide, entonces, la fosforescencia de la superficie. La matriz rígida minimiza la desactivación del estado triplete por amortiguación colisional. La amortiguación colisional afecta mucho más a la fosforescencia que a la fluorescencia debido al mayor tiempo de vida del estado triplete.

El segundo método a temperatura ambiente supone la solubilización del analito en micelas formadas por detergente, en presencia de iones de metales

¹⁰ Véase *Molecular Luminescence Spectroscopy*, S. G. Schulman, Ed., Parte 1, Capítulos 2, 3 y 5. New York: Wiley, 1985. Para una revisión de las aplicaciones bioanalíticas de la espectroscopia de fluorescencia, véase, F. V. Bright, *Anal. Chem.*, **1988**, *60*, 1031A.

¹¹ Para una revisión de la fosforimetría, véase R. J. Hurtubise, *Anal. Chem.*, **1983**, *55*, 669A; R. J. Hurtubise, *Phosphorimetry, Theory, Instrumentation, and Applications*. New York: VCH Publishers, 1990.

pesados. Aparentemente las micelas aumentan la proximidad entre los iones de los metales pesados y el fosforóforo, aumentando así la fosforescencia¹².

15C-4. Aplicación de la fluorimetría y la fosforimetría para la detección en cromatografía líquida

Las medidas de fotoluminiscencia proporcionan un importante método para la detección y determinación de los componentes de una muestra que eluyen de columnas cromatográficas o en electroforesis capilar. Estas aplicaciones se tratan en los Capítulos 28 y 30.

15C-5. Medidas de tiempos de vida

La medida de los tiempos de vida en luminiscencia estaba restringida inicialmente a sistemas fosforescentes, donde los tiempos de caída eran suficientemente largos para permitir una fácil medida de la intensidad emitida en función del tiempo. Varios fabricantes de instrumentos ofrecen un equipo para el estudio de las velocidades de caída de la luminiscencia en la escala de tiempos de fluorescencia (10^{-5} a 10^{-8} s). Este equipo emplea láseres pulsantes que generan impulsos de radiación con anchuras de 70 a 100 ps para la excitación y tubos fotomultiplicadores de tiempo de barrido rápido para la detección. Los instrumentos de este tipo proporcionan información que resulta útil en estudios básicos de transferencia de energía y amortiguación. Además, para el trabajo analítico, las medidas de tiempo de vida incrementan la selectividad de los métodos luminiscentes, ya que permiten el análisis de mezclas que contienen dos o más especies luminiscentes con diferentes velocidades de relajación.

La Figura 15-10 muestra las curvas de un experimento de tiempo de vida de fluorescencia característico. La curva A representa la señal de salida de la fuente en función del tiempo, mientras que la curva B muestra cómo desciende la señal fluorescente. La curva B representa la combinación de la señal de caída de la fuente y el descenso en la señal de emisión del analito. La verdadera señal de caída de la fluorescencia, curva C, se obtiene por decon-

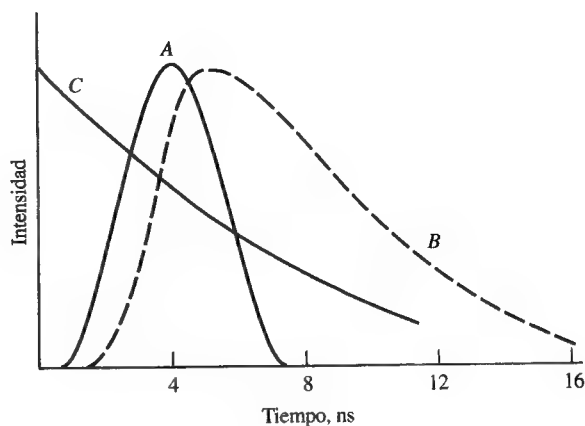


Figura 15-10. Perfiles de tiempo de vida de la fluorescencia: A, impulso de excitación; B, curva de caída aparente; C, curva de caída corregida.

volución de la contribución de la fuente en la señal experimental. Para más detalles acerca de los diversos métodos de la medida de tiempos de vida de la fluorescencia, el lector debe dirigirse a las referencias que se encuentran en la nota a pie de página¹³.

15D. QUIMIOLUMINISCENCIA

La aplicación de la quimioluminiscencia a la química analítica es de desarrollo relativamente reciente. Las reacciones químicas que producen quimioluminiscencia son pocas, limitando, así, el procedimiento a un número relativamente pequeño de especies. No obstante, algunos de los compuestos que reaccionan dando quimioluminiscencia son componentes importantes del medio ambiente. Para estos casos, la alta selectividad, la sencillez y la extrema sensibilidad del método son la causa de su creciente utilización¹⁴.

¹³ Para referencias relacionadas con las medidas de los tiempos de vida, véase L. B. McGown y F. V. Bright, *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.*, **1987**, 18, 245; L. B. McGown, *Anal. Chem.*, **1989**, 61, 839A; G. M. Hieftje y G. R. Haugen, *Anal. Chem.*, **1981**, 53, 755A; L. B. McGown y F. V. Bright, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, 1401A.

¹⁴ Para revisiones de aplicaciones analíticas de la quimioluminiscencia, véase M. L. Grayeski, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 1243A; *Bioluminescence and Chemiluminescence: Instruments and Applications*, K. Van Dyke, Ed. Boca Raton; CRC Press, 1985; A. K. Campbell, *Chemiluminescence: Principles and Applications in Biology and Medicine*. New York: VCH Publishers, 1988.

¹² Véase L. J. Cline Love, M. Skrilec, y J. G. Habarta, *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 754; M. Skrilec y L. J. Cline Love, *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 1559.

15D-1. El fenómeno de la quimioluminiscencia

La quimioluminiscencia se produce cuando una reacción química genera una especie electrónicamente excitada, que emite luz cuando vuelve al estado fundamental o que transfiere su energía a otra especie que, posteriormente, da lugar a una emisión. En varios sistemas biológicos se producen reacciones quimioluminiscentes, en estos casos, el proceso se suele denominar *bioluminiscencia*. Entre los ejemplos de especies que presentan bioluminiscencia se incluyen las luciérnagas, ciertas algas y medusas, bacterias, protozoos y crustáceos. La química de los distintos procesos bioluminiscentes naturales no se conoce totalmente.

Hace más de un siglo se descubrió que ciertos compuestos orgánicos relativamente sencillos también eran capaces de presentar quimioluminiscencia. El tipo de reacción más sencilla de dichos compuestos para producir quimioluminiscencia se puede formular como



donde C^* representa a la especie C en el estado excitado. Aquí, el espectro de luminiscencia es el del producto de reacción C . La mayoría de las reacciones quimioluminiscentes son considerablemente más complicadas de lo que sugieren las reacciones anteriores.

En quimioluminiscencia, la intensidad de radiación I_{CL} (fotones emitidos por segundo) depende de la velocidad de la reacción química (dC/dt) y de la eficacia cuántica de quimioluminiscencia ϕ_{CL} (fotones emitidos por molécula que ha reaccionado). El último término es igual al producto de la eficacia cuántica de excitación ϕ_{EX} (estados excitados por moléculas que han reaccionado) y la eficacia cuántica de emisión ϕ_{EM} (fotones por estado excitado). Estas relaciones se describen mediante la ecuación

$$I_{CL} = \phi_{CL} \frac{dC}{dt} = \phi_{EX} \phi_{EM} \frac{dC}{dt}$$

Los sistemas quimioluminiscentes útiles en análisis, generalmente presentan valores de ϕ_{CL} comprendidos entre 0,01 y 0,2.

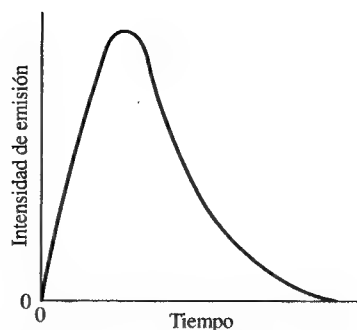


Figura 15-11. Intensidad de emisión de quimioluminiscencia en función del tiempo después de mezclar los reactivos.

15D-2. Medida de la quimioluminiscencia

La instrumentación para las medidas de la quimioluminiscencia es notablemente sencilla y puede consistir tan sólo en un recipiente de reacción adecuado y un tubo fotomultiplicador. Generalmente, no es necesario ningún dispositivo para seleccionar la longitud de onda, ya que la única fuente de radiación es la reacción química entre el analito y el reactivo. Diversos fabricantes de instrumentos ofrecen fotómetros quimioluminiscentes.

La señal característica de un experimento quimioluminiscente en función del tiempo alcanza rápidamente un máximo cuando la mezcla del analito y del reactivo es completa; a continuación la señal desciende de manera que se ajusta más o menos a una función exponencial, (véase Fig. 15-11). Normalmente, en el análisis cuantitativo la señal se integra para un período de tiempo fijo y se compara con patrones tratados de forma idéntica. Como medida alternativa se utilizan las alturas de los picos. A menudo se obtienen relaciones lineales entre la señal y la concentración, para intervalos de concentración de varios órdenes de magnitud.

15D-3. Aplicaciones analíticas de la quimioluminiscencia¹⁵

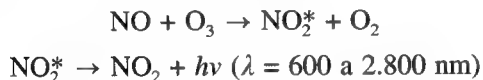
Los métodos quimioluminiscentes tienen, generalmente, una elevada sensibilidad, ya que, en ausencia de ruido, se miden bajos niveles de radiación.

¹⁵ Para un tratamiento de distintas aplicaciones de la quimioluminiscencia en análisis químicos, véase T. A. Nieman, en *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, F. Settle, Ed., Capítulo 27, pág. 541. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1997.

Además, se evita la atenuación de la radiación que tiene lugar cuando ésta atraviesa un filtro o un monocromador. De hecho, los límites de detección vienen determinados, no tanto por la sensibilidad del detector, sino por la pureza de los reactivos. Los límites de detección característicos se encuentran dentro del intervalo de partes por billón (o a veces menos) a partes por millón. Es difícil juzgar las precisiones obtenidas a partir tan sólo de la bibliografía actual.

Análisis de gases

Los métodos quimioluminiscentes para la determinación de gases, se originaron por la necesidad de encontrar medios muy sensibles para la determinación de contaminantes atmosféricos como el ozono, los óxidos de nitrógeno y los compuestos azufrados. De estos métodos, uno de los más utilizados es el destinado a la determinación de monóxido de nitrógeno; las reacciones son



El ozono procedente de un electrogenerador y las muestras de la atmósfera son arrastrados de forma continua al recipiente de reacción, donde se sigue el curso de la radiación luminiscente mediante un tubo fotomultiplicador. Se ha encontrado una respuesta lineal para concentraciones de monóxido de nitrógeno desde 1 ppb hasta 10.000 ppm. Este procedimiento se ha convertido en el más utilizado en el control de la concentración de este importante constituyente atmosférico desde el nivel del mar hasta altitudes de 20 km.

La reacción del monóxido de nitrógeno con el ozono se ha utilizado, también, en la determinación de óxidos de nitrógeno de estados de oxidación superiores. Por ejemplo, el contenido de dióxido de nitrógeno en los gases de escape de los automóviles se ha determinado por descomposición térmica del gas a 700 °C en un tubo de acero. La reacción es

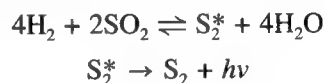


Al menos dos fabricantes ofrecen actualmente un instrumento para la determinación de nitrógeno en materiales sólidos o líquidos que contienen entre un 0,1 y un 30 por 100 de nitrógeno. Las muestras se pirolizan en una atmósfera de oxígeno bajo condiciones en las que el nitrógeno se convierte cuan-

titativamente en monóxido de nitrógeno; este último se mide por el método descrito.

Otro importante método quimioluminiscente se utiliza para el control del ozono atmosférico. En este caso, la determinación se basa en la luminiscencia producida cuando el analito reacciona con el colorante rodamina B, adsorbido sobre una superficie de gel de sílice activada. Este procedimiento es sensible a concentraciones de ozono inferiores a 1 ppb; la respuesta es lineal hasta 400 ppb de ozono. El ozono también se puede determinar en fase gaseosa como consecuencia de la quimioluminiscencia producida cuando el analito reacciona con el etileno. Ambos reactivos se presentan como específicos para el ozono.

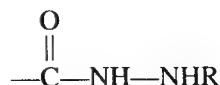
Otro importante método quimioluminiscente en fase gaseosa se utiliza para la determinación de compuestos azufrados de la atmósfera, como el sulfuro de hidrógeno, el dióxido de azufre y los mercaptanos. En estos casos, la muestra se quema en una llama de hidrógeno para dar un dímero de azufre, que posteriormente se descompone emitiendo luz. Por ejemplo, con el dióxido de azufre, las reacciones son



Aquí, la radiación emitida cae dentro de la zona azul, con picos a 384 y 394 nm. Su intensidad es proporcional al dímero de azufre excitado. De forma similar, la combustión de los compuestos fosforados en una llama de hidrógeno da lugar a la emisión de radiación a 526 nm, debido a HPO^* . Se han llegado a obtener curvas de calibrado lineales para intervalos de concentración de más de cuatro decenas. Estas dos técnicas de quimioluminiscencia en llama se emplean para la detección de especies azufradas o fosforadas en el eluyente de las columnas de cromatografía de gases.

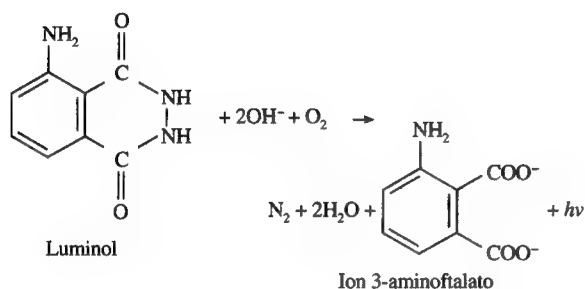
Análisis de especies inorgánicas en fase líquida

Muchos de los análisis llevados a cabo en fase líquida utilizan sustancias quimioluminiscentes orgánicas que contienen el grupo funcional



Estos reactivos reaccionan con el oxígeno, con el peróxido de hidrógeno y con muchos otros agentes

oxidantes fuertes dando lugar a un producto de oxidación quimioluminiscente. El luminol es el ejemplo más común de este tipo de compuestos. A continuación se muestra su reacción con oxidantes fuertes, tales como oxígeno, peróxido de hidrógeno, ion hipoclorito e ion permanganato, en presencia de una base fuerte. A veces se necesita un catalizador para que la reacción transcurra a la velocidad adecuada. La emisión producida coincide con el espectro de fluorescencia del producto, el anión 3-aminoftalato; la quimioluminiscencia es azul y está centrada alrededor de 425 nm.



Dentro de ciertos límites, la intensidad de quimioluminiscencia del luminol es proporcional a la concentración del oxidante, del catalizador o del luminol. Como consecuencia, la reacción proporciona un método sensible para determinar cualquiera de estas especies. Por ejemplo, si se utiliza peróxido de hidrógeno como oxidante, y como catalizador Co^{2+} , se pueden determinar concentraciones de éste inferiores a 0,01 nmol/L, si el catalizador es Cr^{3+} , se pueden determinar concentraciones inferiores a 0,5 nmol/L y si es Cu^{2+} , concentraciones inferiores a 1 nmol/L. Con algunos cationes tiene lugar una inhibición de la luminiscencia; en esos casos, el descenso en la intensidad permite determinar sus concentraciones.

Análisis de especies orgánicas

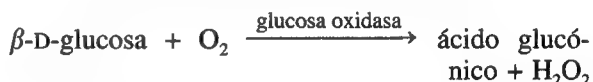
Para aumentar la selectividad de las reacciones quimioluminiscentes y ampliar la quimioluminiscencia a analitos que no participan directamente en las reacciones quimioluminiscentes, es común llevar a cabo una reacción enzimática, como etapa previa a la quimioluminiscencia, en la que el analito a determinar es el sustrato y uno de los productos de la reacción enzimática se detecta por qui-

mioluminiscencia. Este método se realiza, normalmente, en sistemas de flujo con columnas rellenas de la enzima inmovilizada. Sin embargo, recientemente se ha dirigido la atención hacia los biosensores que utilizan enzimas unidas a fibras ópticas.

En la etapa de predetección se suelen utilizar enzimas oxidasas que generan H_2O_2 . No sólo puede determinarse el H_2O_2 con distintos sistemas quimioluminiscentes, sino que el oxidante necesario (O_2) está presente en la mayoría de las muestras, especialmente en aquellas que son disoluciones acuosas. Asumiendo que por efecto del enzima se consigue una conversión cuantitativa, se pueden determinar los sustratos cuyas concentraciones están por debajo de 10 a 100 nM, lo mismo que el H_2O_2 . Dentro de los sustratos detectados de esta forma se encuentran: glucosa, colesterol, colina, ácido úrico, aminoácidos, aldehídos y lactato. Por ejemplo:



la misma propuesta se puede ampliar utilizando etapas enzimáticas secuenciales para convertir finalmente al analito en una cantidad equivalente de producto quimioluminiscente. De esta forma se han determinado azúcares distintos de la glucosa, glucósidos, ésteres del colesterol, creatinina y acetilcolina¹⁶. Por ejemplo:

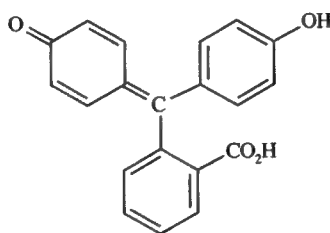


El luminol más una peroxidasa, como catalizador, parece ser el sistema óptimo para la determinación de H_2O_2 . El pico de intensidad luminiscente se alcanza en aproximadamente 100 ms; el disolvente es acuoso pero es compatible con algunos compuestos orgánicos; el límite de detección es próximo a 0,1 pM, con un intervalo de linealidad de tres a cuatro decenas de concentración.

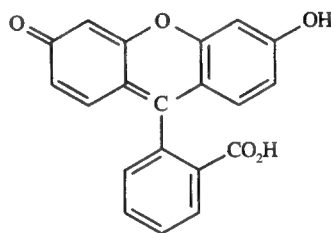
¹⁶ C. A. K. Swindlehurst y T. A. Nieman, *Anal. Chim. Acta*, **1988**, 205, 195.

15E. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 15-1. Definir los siguientes términos: (a) fluorescencia, (b) fosforescencia, (c) fluorescencia de resonancia, (d) estado singlete, (e) estado triplete, (f) relajación vibracional, (g) conversión interna, (h) conversión externa, (i) cruce entre sistemas, (j) predisiociación, (k) disociación, (l) rendimiento cuántico y (m) quimioluminiscencia.
- 15-2. Explicar la diferencia que existe entre un espectro de emisión fluorescente y un espectro de excitación fluorescente. ¿Cuál de ellos se parece más a un espectro de absorción?
- 15-3. ¿Por qué la espectrofluorimetría es potencialmente más sensible que la espectrofotometría?
- 15-4. ¿Para cuál de los siguientes compuestos se espera un mayor rendimiento cuántico de fluorescencia? Explicarlo.



Fenoftaleína



Fluoresceína

- 15-5. ¿En qué disolvente es de esperar que presente más fluorescencia el naftaleno: 1-cloropropano, 1-bromopropano o 1-yodopropano? Explicarlo.
- 15-6. La forma reducida del dinucleótido de adenina y nicotinamida (NADH) es un importante coenzima y altamente fluorescente. Tiene un máximo de absorción a 340 nm y un máximo de emisión a 465 nm. Unas disoluciones patrón de NADH dieron las siguientes intensidades de fluorescencia:

Concentración de NADH ($\mu\text{mol/L}$)	Intensidad relativa, I
0,100	2,24
0,200	4,74
0,300	6,59
0,400	8,98
0,500	10,93
0,600	14,01
0,700	15,49
0,800	18,02

- (a) Construir la curva de calibrado para el NADH.
- (b) Calcular, por mínimos cuadrados, los parámetros de la regresión de la ecuación de la recta correspondiente a la representación gráfica del apartado (a).
- (c) Calcular la desviación estándar de la pendiente y la ordenada en el origen.

- (d) Una disolución problema presenta una fluorescencia relativa de 12,16. Calcular la concentración de NADH.
- (e) Calcular la desviación estándar relativa del resultado del apartado (d).
- (f) Calcular la desviación estándar relativa del resultado del apartado (d) si la lectura 12,16 fuera la media de tres medidas.

15-7. Los siguientes volúmenes de una disolución que contenía 1,10 ppm de Zn^{2+} se pipetearon en ampollas de decantación que contenían, cada una, 5,00 mL de una disolución de Zn^{2+} desconocida: 0,00; 5,00; 10,00 y 15,00 mL. Cada uno de ellos fue extraído con tres alícuotas de 5 mL de CCl_4 que contenía un exceso de 8-hidroxiquinolina. Los extractos se diluyeron a 25,0 mL y se midió su fluorescencia con un fluorímetro. Los resultados fueron:

Volumen de Zn^{2+} patrón/mL	Lectura del fluorímetro, <i>R</i>
0,000	6,08
5,00	11,24
10,00	15,47
15,00	20,84

- (a) Representar gráficamente las lecturas del fluorímetro frente al volumen de disolución patrón.
- (b) Calcular, por mínimos cuadrados, los parámetros de regresión de la ecuación de la recta correspondiente a la representación gráfica.
- (c) Calcular la desviación estándar de la pendiente y de la regresión.
- (d) Calcular la concentración de cinc en la muestra.
- (e) Calcular la desviación estándar para el resultado del apartado (d).

15-8. A cuatro alícuotas de 10,0 mL de una muestra de agua se adicionaron 0,00; 1,50; 3,00 y 4,50 mL de una disolución patrón de NaF que contenía 10,0 ppb de F^- . Se adicionaron a cada una 5,00 mL exactos de una disolución que contenía un exceso del complejo de Al con el granate de alizarina R, un complejo fuertemente fluorescente, y las soluciones se diluyeron a 50,0 mL. La intensidad de fluorescencia de las cuatro disoluciones, una de ellas el blanco, fueron:

mL de muestra	mL de F^- patrón	Lectura, <i>R</i>
5,00	0,00	66,3
5,00	1,50	53,7
5,00	3,00	39,0
5,00	4,50	26,4

- (a) Explicar el fundamento químico del método analítico.
- (b) Representar gráficamente los datos.
- (c) Calcular, por mínimos cuadrados, los parámetros de regresión de la ecuación de la recta que relaciona la disminución de la fluorescencia con el volumen de reactivo patrón.
- (d) Calcular la desviación estándar de la pendiente y de la regresión
- (e) Calcular la concentración, en ppb, de F^- en la muestra.
- (f) Calcular la desviación estándar del dato del apartado (e).

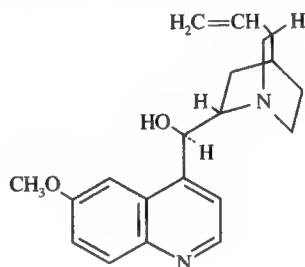
- 15-9.** Los iones de Fe(II) catalizan la reacción del luminol con H_2O_2 . Se ha comprobado que la intensidad de quimioluminiscencia resultante aumenta linealmente con la concentración de hierro(II) desde 10^{-10} a 10^{-8} M.

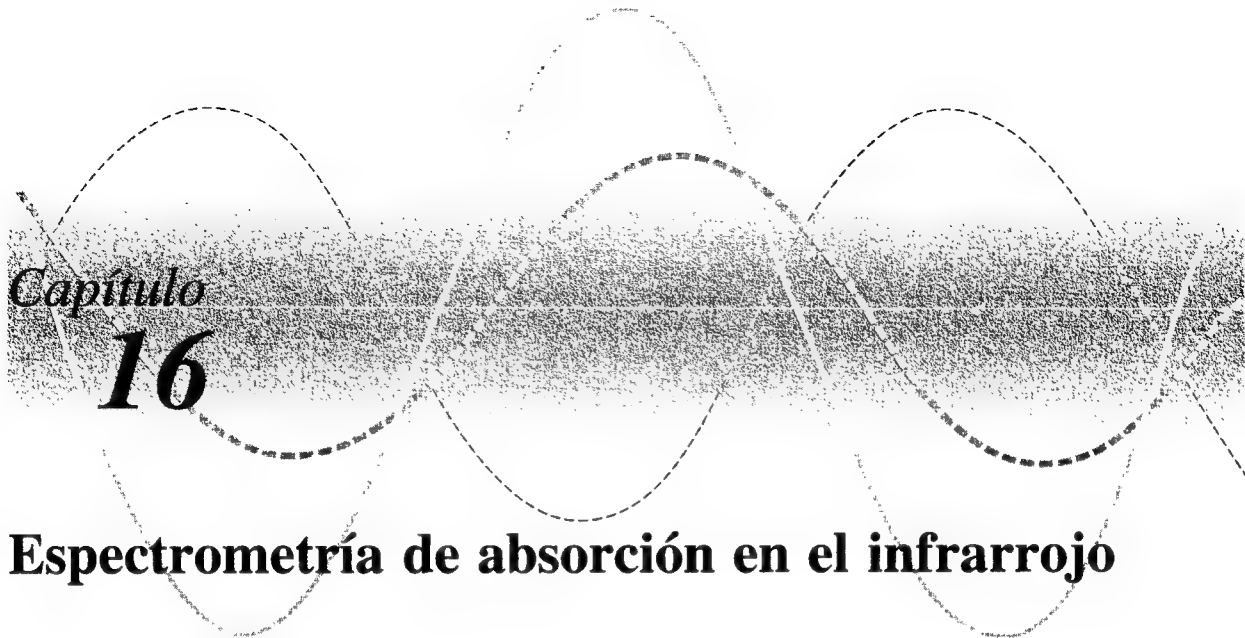
A una alícuota de 2,00 mL de una disolución problema de Fe(II) se adicionaron 1,00 mL exactos de agua, seguidos de 2,00 mL de una disolución diluida de H_2O_2 y 1,00 mL de una disolución alcalina de luminol. La señal quimioluminiscente de la mezcla se integró durante un período de 10,0 s y se encontró que era de 16,1.

A una segunda alícuota de 2,00 mL de la muestra se adicionaron 1,00 mL de una disolución de Fe(II) $4,75 \times 10^{-5}$ M seguido del mismo volumen de H_2O_2 y luminol. La intensidad integrada fue 29,6. Calcular la concentración molar del Fe(II) en la muestra.

- 15-10.** Las reacciones para la determinación del SO_2 se encuentran en la página 403. Deducir una expresión que relacione la concentración de SO_2 en una muestra, la intensidad de luminiscencia y la constante de equilibrio para la primera reacción.

- 15-11.** La quinina es una de las moléculas fluorescente mejor conocida y las sensibilidades de los fluorímetros a menudo se especifican, en términos del límite de detección, para esta molécula. La estructura de la quinina se da a continuación. Predecir qué parte de la molécula tiene la mayor probabilidad de comportarse como cromóforo y como centro fluorescente.





Capítulo 16

Espectrometría de absorción en el infrarrojo

La región del infrarrojo del espectro abarca la radiación con números de onda comprendidos entre 12.800 y 10 cm^{-1} , que corresponden a longitudes de onda de $0,78$ a $1.000\text{ }\mu\text{m}^1$. Tanto desde el punto de vista de las aplicaciones como de la instrumentación, es conveniente dividir el espectro infrarrojo en tres regiones denominadas **infrarrojo cercano**, **medio** y **lejano**; en la Tabla 16-1 se muestran los límites aproximados de cada una de ellas.

Las técnicas y las aplicaciones de los métodos basados en cada una de las tres regiones del espectro infrarrojo difieren considerablemente. Las medidas en la región del infrarrojo cercano se realizan con fotómetros y espectrofotómetros similares, en cuanto a su diseño y componentes, a los instrumentos descritos en los capítulos anteriores de espectrometría ultravioleta/visible. Las aplicaciones más importantes de esta región espectral se encuentran en el análisis cuantitativo de materiales industriales y agrícolas y en los procesos de

control. Las aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo cercano se tratan en el Apartado 17D.

Hasta principios de los años ochenta, los instrumentos para la región del infrarrojo medio o fundamental eran en su mayoría de tipo dispersivo, contando con la presencia de redes de difracción. Sin embargo, a partir de ese momento, tuvo lugar un cambio espectacular en la instrumentación del infrarrojo medio, de tal manera que ahora la mayoría de los instrumentos nuevos son del tipo de transformada de Fourier. Los fotómetros con filtros de interferencias también son útiles para medir la composición de los gases y de los contaminantes atmosféricos.

La aparición, en la última década, de espectrómetros de transformada de Fourier relativamente baratos ha aumentado notablemente el número y tipo de aplicaciones de la radiación del infrarrojo fundamental. La razón de este incremento radica en el aumento de la relación señal/ruido, y de los límites de detección, en un orden de magnitud e incluso mayor, que puede conseguirse con los instrumentos interferométricos. Antes de la aparición de estos instrumentos, la región espectral del infrarrojo me-

¹ Hasta hace poco tiempo, la unidad de longitud de onda que corresponde a 10^{-6} m se denominaba micrón, μm ; actualmente, resulta más apropiado el término micrómetro, μm .

TABLA 16-1. Regiones del espectro infrarrojo

Región	Intervalo de longitud de onda (λ), μm	Intervalo de número de onda ($\bar{\nu}$), cm^{-1}	Intervalo de frecuencias (ν), Hz
Cercano	0,78 a 2,5	12.800 a 4.000	$3,8 \times 10^{14}$ a $1,2 \times 10^{14}$
Medio	2,5 a 50	4.000 a 200	$1,2 \times 10^{14}$ a $6,0 \times 10^{12}$
Lejano	50 a 1.000	200 a 10	$6,0 \times 10^{12}$ a $3,0 \times 10^{11}$
La más utilizada	2,5 a 15	4.000 a 670	$1,2 \times 10^{14}$ a $2,0 \times 10^{13}$

dio se utilizaba en su mayor parte para el análisis orgánico cualitativo y la determinación estructural, teniendo como base los espectros de absorción. Ahora, como contraste, la espectrometría en el infrarrojo medio se está comenzando a utilizar además en el análisis cuantitativo de muestras complejas, mediante espectrometría de absorción y emisión. También han empezado a aparecer aplicaciones de esta región espectral en los estudios microscópicos de superficies, análisis de sólidos mediante reflectancia total atenuada y reflectancia difusa, medidas fotoacústicas y otras. Algunas de estas aplicaciones se describen en el Capítulo 17.

El uso de la región del espectro del infrarrojo lejano, aunque potencialmente bastante útil, ha estado limitado en el pasado como consecuencia de dificultades experimentales. Las pocas fuentes de este tipo de radiación disponibles son notoriamente débiles y además se ven atenuadas por la necesidad de utilizar filtros de selección de órdenes espectrales para evitar que la radiación de mayores órdenes que emerge de la red de dispersión alcance el detector. Los espectrómetros de transformada de Fourier, con un rendimiento muy superior, alivian en gran parte este problema y hacen a la región espectral del infrarrojo lejano mucho más accesible para los químicos. En el Apartado 17E se describen algunas aplicaciones de la espectroscopia en el infrarrojo lejano.

En este capítulo, primero se consideran los mecanismos de absorción, emisión y reflexión de la radiación en el infrarrojo utilizando la espectroscopia de absorción como base para esta discusión. Se continúa con una descripción de los componentes de los instrumentos para infrarrojo y de cómo

están dispuestos en los instrumentos dispersivos y no dispersivos así como en los espectrómetros de transformada de Fourier².

16A. TEORÍA DE LA ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO

Los espectros de absorción, emisión y reflexión en el infrarrojo, de especies moleculares, se pueden explicar asumiendo que todos son el resultado de los distintos cambios energéticos producidos en las transiciones de las moléculas de unos estados de energía vibracionales y rotacionales a otros. En este apartado se utilizará la absorción molecular para ilustrar la naturaleza de estas transiciones.

16A-1. Introducción

El gráfico que se muestra en la Figura 16-1 es una reproducción del registro obtenido con un espectrómetro de infrarrojo comercial de amplio uso. Como normalmente sucede, en la ordenada se representa una escala lineal de la transmitancia. En esta gráfica en la abscisa se representa una escala lineal de número de onda en unidades de cm^{-1} . La mayoría de los instrumentos modernos utilizan un microordenador con un «software» versátil capaz

² Para una discusión más detallada sobre la espectrometría en el infrarrojo, véase N. B. Colthup, L. H. Daly y S. E. Wiberley, *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*, 3.^a ed. San Diego: Academic Press, 1990; B. Schrader, *Infrared and Raman Spectroscopy*. New York: VCH Press, 1995; A. L. Smith, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.^a ed., P. J. Elving, E. J. Meehan e I. M. Kolthoff, Eds., Parte I, Vol. 7, Capítulo 5. New York: Wiley, 1981.

de producir diversos formatos de señales de salida, tales como transmitancia frente a longitud de onda, y absorbancia frente a número de onda o longitud de onda.

La preferencia por la escala lineal de número de onda, en espectroscopia en el infrarrojo, se debe a la directa proporcionalidad que existe entre esta magnitud y la energía o la frecuencia. La frecuencia de la radiación absorbida coincide con la frecuencia de la vibración molecular, que en realidad es la responsable del proceso de absorción. Sin embargo, rara vez se utiliza la frecuencia como abscisa, debido al tamaño poco adecuado de las unidades; así, la escala de frecuencia en el espectro de la Figura 16-1 debería extenderse desde $1,2 \times 10^{14}$ a $2,0 \times 10^{13}$ Hz. Aunque en muchas ocasiones se hace referencia a la escala en cm^{-1} como una escala de frecuencia, debe tenerse en cuenta que esta terminología no es del todo correcta ya que el número de onda sólo es proporcional a la frecuencia.

Por último, se debe destacar que la abscisa en la Figura 16-1 cambia de escala a partir de 2.000 cm^{-1} ; en el caso de los números de onda superiores a 2.000 cm^{-1} , la distancia entre dos unidades es la mitad de la que separa dos unidades de número de onda cuando éstos son inferiores a 2.000 cm^{-1} . Esta discontinuidad se introduce por comodidad, dado que en los espectros de in-

frarrojo la mayoría de los detalles útiles, desde el punto de vista cualitativo, aparecen a números de onda inferiores a 2.000 cm^{-1} .

Cambios en el dipolo durante las vibraciones y las rotaciones

La radiación en el infrarrojo no es lo suficientemente energética para producir la clase de transiciones electrónicas que se dan cuando la radiación es ultravioleta, visible y de rayos X. La absorción de radiación en el infrarrojo se limita así, en gran parte, a especies moleculares para las cuales existen pequeñas diferencias de energía entre los distintos estados vibracionales y rotacionales.

Para absorber radiación en el infrarrojo, una molécula debe sufrir un cambio neto en el momento dipolar como consecuencia de su movimiento de vibración o de rotación. Sólo en estas circunstancias, el campo eléctrico alterno de la radiación puede interaccionar con la molécula, y provocar cambios en la amplitud de alguno de sus movimientos. Por ejemplo, la distribución de la carga alrededor de una molécula como el ácido clorhídrico no es simétrica, ya que el cloro posee una mayor densidad electrónica que el hidrógeno. Por tanto, el ácido clorhídrico posee un momento dipolar significativo y se dice que es una molécula polar. El momento

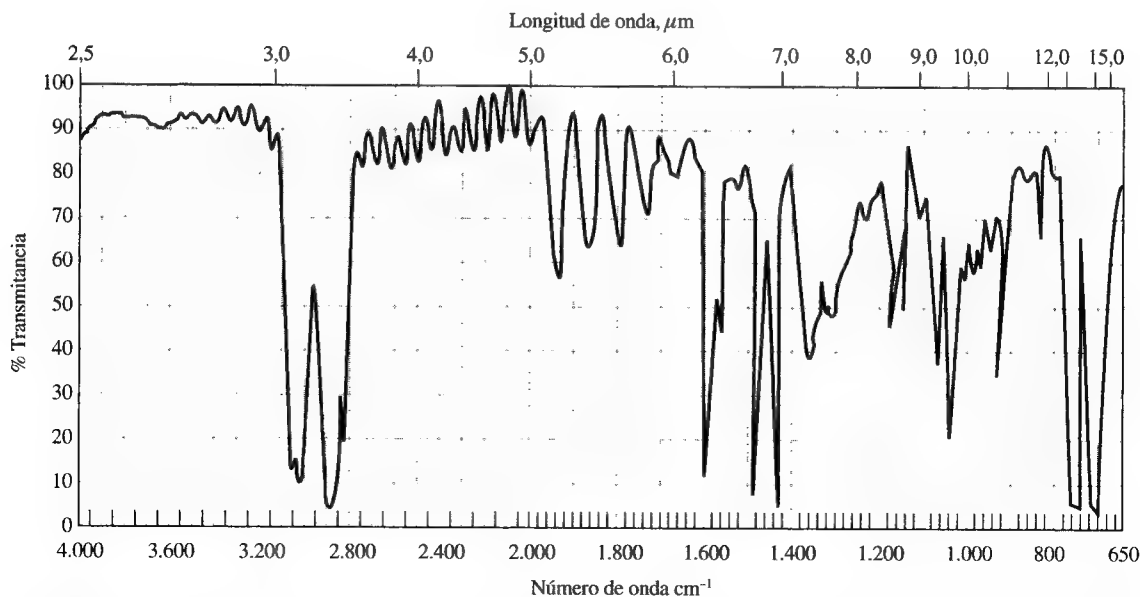


Figura 16-1. Espectro de absorción en el infrarrojo de una película delgada de poliestireno obtenido con un moderno espectrofotómetro de IR. Obsérvese que la escala de abscisas cambia a partir de 2.000 cm^{-1} .

dipolar está determinado por la magnitud de la diferencia de carga y por la distancia entre los dos centros de carga. Dado que la molécula de ácido clorhídrico vibra, se produce una constante variación del momento dipolar, lo que origina un campo que puede interactuar con el campo eléctrico asociado a la radiación. Si la frecuencia de la radiación coincide exactamente con la frecuencia de vibración natural de la molécula, tiene lugar una transferencia neta de energía que origina un cambio en la *amplitud* de la vibración molecular; la consecuencia es la absorción de radiación. De manera análoga, la rotación de las moléculas asimétricas, alrededor de sus centros de masa, produce una variación periódica en el dipolo que puede interactuar con la radiación.

Cuando se trata de especies homonucleares como el O_2 , N_2 o Cl_2 , el momento dipolar no sufre un cambio neto durante la vibración o la rotación y, como consecuencia, este tipo de compuestos no absorben en el infrarrojo. Con la excepción de algunos compuestos de este tipo, todas las demás especies moleculares absorben radiación en el infrarrojo.

Transiciones rotacionales

La energía necesaria para provocar un cambio en los niveles rotacionales es muy pequeña y corresponde a radiaciones de 100 cm^{-1} o menores ($>100\text{ }\mu\text{m}$). Dado que los niveles rotacionales están cuantizados, la absorción por los gases en la región del infrarrojo lejano se caracteriza por líneas discretas bien definidas. En los líquidos o los sólidos los choques e interacciones intramoleculares causan el ensanchamiento de las líneas originando un espectro continuo.

Transiciones vibracionales/rotacionales

Los niveles de energía vibracionales también están cuantizados, y para la mayoría de las moléculas las diferencias de energía entre los estados cuantizados corresponden a la región del infrarrojo medio. El espectro infrarrojo de un gas consta, por lo general, de una serie de líneas muy próximas entre sí, debido a la existencia de varios estados energéticos rotacionales para cada estado vibracional. Por otra parte, en los sólidos y en los líquidos la rotación está muy restringida; en este tipo de muestras, las líneas discretas vibracionales/rotacionales desaparecen, quedando sólo los picos vibracionales algo ensanchados.

Tipos de vibraciones moleculares

Las posiciones relativas de los átomos en una molécula no son exactamente fijas, sino que fluctúan continuamente como consecuencia de una multitud de tipos de vibraciones y rotaciones diferentes alrededor de los enlaces en la molécula. Para una molécula sencilla diatómica o triatómica es fácil definir el número y la naturaleza de tales vibraciones, y relacionarlas con las energías de absorción. Sin embargo, en el caso de las moléculas poliatómicas se hace difícil, si no imposible, un análisis de esta clase, no sólo a causa del gran número de centros de vibración que presentan las moléculas grandes, sino también por las interacciones que aparecen entre algunos de estos centros y que se deben tener en cuenta.

Pueden distinguirse dos categorías básicas de vibraciones: de *tensión* y de *flexión*. Una vibración de tensión supone un cambio continuo en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos. Las vibraciones de flexión se caracterizan por un cambio en el ángulo entre dos enlaces y son de cuatro tipos: de *tijereteo*, de *balanceo*, de *aleteo* y de *torsión*. Los distintos tipos de vibraciones se representan esquemáticamente en la Figura 16-2.

En una molécula que contiene más de dos átomos, son posibles todos los tipos de vibraciones mostrados en la Figura 16-2. Además, puede producirse una interacción o *acoplamiento* de las vibraciones si éstas involucran enlaces con un mismo átomo central. El resultado del acoplamiento es un cambio en las características de las vibraciones implicadas.

En el tratamiento que sigue, primero se consideran las vibraciones aisladas representadas por un modelo mecánico sencillo denominado el *oscilador armónico*. A continuación se exponen las modificaciones de la teoría del oscilador armónico necesarias para describir un sistema molecular. Por último, se consideran los efectos de las interacciones vibracionales en los sistemas moleculares.

16A-2. Modelo mecánico de la vibración de tensión en una molécula diatómica

Las características de una vibración de tensión entre dos átomos, se pueden aproximar a las de un modelo mecánico que consta de dos masas unidas mediante

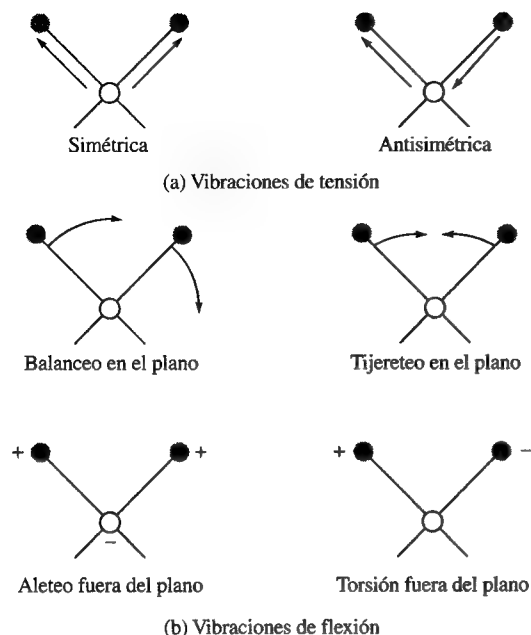


Figura 16-2. Tipos de vibraciones moleculares. Nota: + indica un movimiento del plano de la página hacia el lector; - indica un movimiento del plano de la página alejándose del lector.

un resorte. La perturbación de una de estas masas a lo largo del eje del resorte produce una vibración denominada *movimiento armónico simple*.

Considérese en primer lugar la vibración de una única masa unida a un resorte que cuelga de un objeto inmóvil (véase Fig. 16-3a). Si esta masa se desplaza una distancia y de su posición de equilibrio al aplicar una fuerza a lo largo del eje del resorte, la fuerza restauradora F es proporcional al desplazamiento (ley de Hooke). Esto es,

$$F = -ky \quad (16-1)$$

donde k es la *constante de fuerza*, que depende de la rigidez del resorte. El signo negativo indica que F es una fuerza restauradora. Esto significa que la dirección de la fuerza se opone a la dirección del desplazamiento. Así, la fuerza tiende a que la masa recupere su posición original.

Energía potencial de un oscilador armónico

Cuando la masa se encuentra en reposo o en su posición de equilibrio, tanto a la masa como al resorte se les puede asignar arbitrariamente un valor de energía potencial E igual a cero. Sin embargo, al comprimir o extender el resorte, la energía potencial

del sistema aumenta en una cantidad igual al trabajo requerido para desplazar la masa. Por ejemplo, si la masa se desplaza de su posición y a $(y + dy)$, el trabajo, y por tanto la variación de energía potencial dE , es igual a la fuerza F multiplicada por la distancia dy . Así,

$$dE = -Fdy \quad (16-2)$$

Combinando las Ecuaciones 16-2 y 16-1 se obtiene

$$dE = kydy$$

Integrando entre la posición de equilibrio ($y = 0$) e y , resulta

$$\int_0^E dE = k \int_0^y ydy$$

$$E = \frac{1}{2}ky^2 \quad (16-3)$$

La curva de energía potencial para una oscilación armónica simple, obtenida a partir de la Ecuación 16-3, es una parábola como la representada en la Figura 16-3a. Obsérvese que cuando el resorte está extendido o comprimido a su máxima amplitud A , la energía potencial alcanza un máximo, y disminuye a cero en la posición de equilibrio.

Frecuencia de la vibración

El movimiento de la masa en función del tiempo t se puede deducir, según la mecánica clásica, como sigue. La segunda ley de Newton establece que

$$F = ma$$

donde m es la masa y a su aceleración. Pero la aceleración es la segunda derivada de la distancia con respecto al tiempo. De este modo,

$$a = \frac{d^2y}{dt^2}$$

Sustituyendo estas expresiones en 16-1 se obtiene

$$m \frac{d^2y}{dt^2} = -ky \quad (16-4)$$

La solución de esta ecuación debe ser una función periódica tal que su segunda derivada sea igual a la

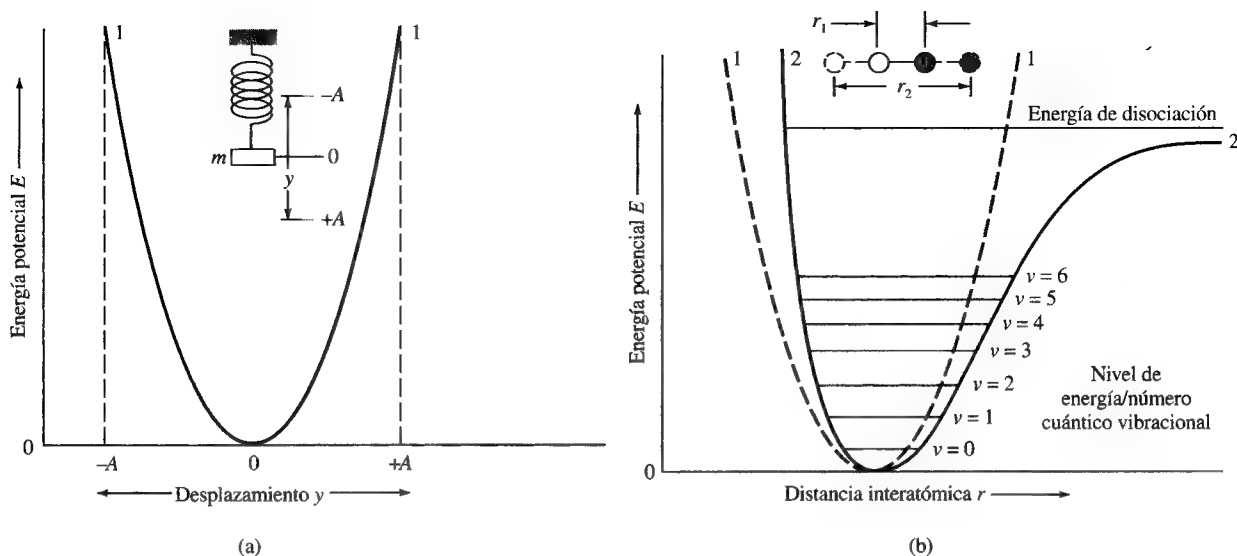


Figura 16-3. Diagramas de energía potencial. Curva 1, oscilador armónico. Curva 2, oscilador anarmónico.

función original multiplicada por $-(k/m)$. Una función coseno adecuada cumple con este requisito. De esta forma, el desplazamiento instantáneo de la masa a un tiempo t se puede escribir como

$$y = A \cos 2\pi\nu_m t \quad (16-5)$$

donde ν_m es la frecuencia natural de vibración y A es la amplitud máxima del movimiento. La segunda derivada de la Ecuación 16-5 es

$$\frac{d^2y}{dt^2} = -4\pi^2\nu_m^2 A \cos 2\pi\nu_m t \quad (16-6)$$

Sustituyendo las Ecuaciones 16-5 y 16-6 en la Ecuación 16-4 resulta

$$A \cos 2\pi\nu_m t = \frac{4\pi^2\nu_m^2 m}{k} A \cos 2\pi\nu_m t$$

La frecuencia natural de la oscilación es entonces

$$\nu_m = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m}} \quad (16-7)$$

donde ν_m es la *frecuencia natural* del oscilador mecánico. Aunque depende de la constante de fuerza del resorte y de la masa del cuerpo unido a él, la frecuencia natural es *independiente* de la energía

comunicada al sistema; los cambios de energía sólo provocan una variación de la amplitud A de la vibración.

La ecuación que se acaba de deducir puede modificarse para describir el comportamiento de un sistema constituido por dos masas m_1 y m_2 unidas por un resorte. En este caso, sólo es necesario sustituir la masa m por la *masa reducida* μ que vale

$$\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \quad (16-8)$$

Por tanto, la frecuencia de la vibración para este sistema viene dada por

$$\nu_m = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k(m_1 + m_2)}{m_1 m_2}} \quad (16-9)$$

Vibraciones moleculares

Normalmente, se hace la aproximación de que el comportamiento de una vibración molecular es análogo al modelo mecánico que se acaba de describir. De esta forma, la frecuencia de la vibración molecular se calcula mediante la Ecuación 16-9 sustituyendo las masas m_1 y m_2 en la Ecuación 16-8 por las masas de los dos átomos para obtener μ ; k se convierte en la constante de fuerza del enlace químico, que es una medida de su rigidez.

16A-3. Tratamiento cuántico de las vibraciones

Las ecuaciones de la mecánica clásica, tal como se han utilizado hasta ahora, no describen completamente el comportamiento de las partículas con dimensiones atómicas. Por ejemplo, la naturaleza cuantizada de las energías vibracionales moleculares y de otras energías atómicas y moleculares no aparecen en estas ecuaciones. Sin embargo, es posible emplear el concepto del oscilador armónico simple para deducir las ecuaciones de onda de la mecánica cuántica. Las soluciones de estas ecuaciones para las energías potenciales tienen la forma siguiente:

$$E = \left(\nu + \frac{1}{2} \right) \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (16-10)$$

donde h es la constante de Planck, y ν es el *número cuántico vibracional*, que sólo puede tomar valores enteros positivos (incluyendo el cero). Por tanto, en contraste con la mecánica clásica, en la que los osciladores pueden presentar cualquier energía potencial positiva, la mecánica cuántica establece que los osciladores sólo pueden presentar determinadas energías discretas.

Es interesante observar que el término $(\sqrt{k/\mu})/2\pi$ aparece tanto en las ecuaciones mecánicas como en las cuánticas; sustituyendo la Ecuación 16-9 en la 16-10, se tiene

$$E = \left(\nu + \frac{1}{2} \right) h\nu_m \quad (16-11)$$

donde ν_m es la frecuencia vibracional del modelo clásico³.

Supóngase ahora que puedan producirse transiciones entre los niveles de energía vibracional mediante la absorción de una radiación, siempre que la energía de la radiación coincida exactamente con la diferencia de niveles de energía ΔE entre los estados cuánticos vibracionales y siempre que la vibración cause una variación del dipolo. *Esta diferencia es idéntica para cualquier par de niveles*

adyacentes, puesto que ν en las Ecuaciones 16-10 y 16-11 sólo puede tomar valores enteros; es decir,

$$\Delta E = h\nu_m = \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (16-12)$$

A temperatura ambiente, la mayoría de las moléculas se encuentran en el estado fundamental ($\nu = 0$) y, por tanto, a partir de la Ecuación 16-11,

$$E_0 = \frac{1}{2} h\nu_m$$

La promoción al primer estado excitado ($\nu = 1$) de energía

$$E_1 = \frac{3}{2} h\nu_m$$

requiere una radiación de energía

$$\left(\frac{3}{2} h\nu_m - \frac{1}{2} h\nu_m \right) = h\nu_m$$

La frecuencia de la radiación ν que producirá este cambio es *idéntica a la frecuencia de vibración clásica del enlace* ν_m . Es decir,

$$E_{\text{radiación}} = h\nu = \Delta E = h\nu_m = \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

o bien,

$$\nu = \nu_m = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (16-13)$$

Si se quiere expresar la radiación en número de onda, se sustituye en la Ecuación 6-3 (página 124) y se reordena:

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}} = 5,3 \times 10^{-12} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (16-14)$$

donde $\bar{\nu}$ es el número de onda, en cm^{-1} , correspondiente a un pico de absorción, k es la constante de fuerza del enlace en Newtons por metro (N/m), c es la velocidad de la luz en cm/s , y la masa reducida, μ , que se define mediante la Ecuación 16-8, tiene unidades de kg^4 .

³ Desafortunadamente, el símbolo más aceptado para el número cuántico vibracional ν es parecido a la letra griega ν que simboliza la frecuencia. Así, se ha de tener cuidado para evitar confundirlos en ecuaciones como la 16-11.

⁴ Por definición, el Newton es $\text{N} = \text{kg} \cdot \text{m/s}^2$. Así, $\sqrt{k/\mu}$ tiene unidades de s^{-1} .

Mediante mediciones en la región del infrarrojo y la Ecuación 16-14 se pueden determinar las constantes de fuerza de distintos tipos de enlaces químicos. Por lo general, se ha encontrado que k se encuentra entre 3×10^2 y 8×10^2 N/m en la mayoría de los enlaces sencillos; la cifra de 5×10^2 se puede tomar como un valor medio razonable. De esta misma forma se ha establecido que los enlaces dobles y triples tienen una constante de fuerza de dos a tres veces este valor (1×10^3 y $1,5 \times 10^3$, respectivamente). Con estos valores experimentales medios, puede emplearse la Ecuación 16-14 para calcular el número de onda del pico de absorción fundamental o pico de absorción debido a la transición del estado fundamental al primer estado excitado para diferentes tipos de enlaces. El siguiente ejemplo muestra este cálculo.

EJEMPLO 16-1

Calcular la longitud de onda y el número de onda aproximados del pico de absorción fundamental correspondiente a la vibración de tensión de un grupo carbonilo C=O.

La masa del átomo de carbono en kilogramos viene dada por

$$m_1 = \frac{12 \times 10^{-3} \text{ kg/mol}}{6,0 \times 10^{23} \text{ átom/mol}} \times 1 \text{ átom} \\ = 2,0 \times 10^{-26} \text{ kg}$$

De manera análoga, para el oxígeno,

$$m_2 = (16 \times 10^{-3}) / (6,0 \times 10^{23}) = 2,7 \times 10^{-26} \text{ kg}$$

y la masa reducida μ viene dada por (Ecuación 16-8)

$$\mu = \frac{2,0 \times 10^{-26} \text{ kg} \times 2,7 \times 10^{-26} \text{ kg}}{(2,0 + 2,7) \times 10^{-26} \text{ kg}} \\ = 1,1 \times 10^{-26} \text{ kg}$$

Como se ha indicado previamente la constante de fuerza para el doble enlace típico es de aproximadamente 1×10^3 N/m. Sustituyendo este valor y el de μ en la Ecuación 16-14 se obtiene

$$\bar{\nu} = 5,3 \times 10^{-12} \text{ s/cm} \sqrt{\frac{1 \times 10^3 \text{ N/m}}{1,1 \times 10^{-26} \text{ kg}}} \\ = 1,6 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$$

La banda de tensión del carbonilo se encuentra experimentalmente en la región de 1.600 a 1.800 cm^{-1} (de $6,3$ a $5,6 \mu\text{m}$).

Reglas de selección

Tal como se deduce de las Ecuaciones 16-11 y 16-12, la energía para una transición del nivel de energía 1 al 2, o del nivel 2 al 3, debería coincidir con la de la transición del nivel 0 al 1. Además, la teoría cuántica demuestra que las únicas transiciones que pueden tener lugar son aquellas en las que el número cuántico vibracional cambia en una unidad; es decir, la denominada *regla de selección* establece que $\Delta v = \pm 1$. Dado que los niveles vibracionales están igualmente espaciados, para una vibración molecular determinada sólo tendría que observarse un pico de absorción.

Oscilador anarmónico

Hasta ahora, se ha considerado el oscilador armónico desde el punto de vista de la mecánica clásica y de la mecánica cuántica. La energía potencial de un oscilador de este tipo cambia periódicamente al fluctuar la distancia entre las masas (Fig. 16-3a). Sin embargo, desde un punto de vista cualitativo es evidente que ésta es una descripción imperfecta de la vibración molecular. Por ejemplo, cuando dos átomos se acercan entre sí, la repulsión electrostática entre los dos núcleos produce una fuerza que actúa en la misma dirección que la fuerza restauradora del enlace; por tanto, puede esperarse que la energía potencial se eleve más rápidamente que lo que predice la teoría del oscilador armónico. En el otro extremo de la oscilación se produce una disminución de la fuerza restauradora, y a su vez de la energía potencial, cuando la distancia interatómica se acerca a aquella en la que se produce la disociación de los átomos.

En teoría, las ecuaciones de onda de la mecánica cuántica permiten deducir curvas de energía potencial más correctas para las vibraciones moleculares. Pero, por desgracia, la complejidad matemática de estas ecuaciones limita su aplicación cuantitativa tan sólo a los sistemas más sencillos. Desde un punto de vista cualitativo, las curvas han de tener la forma *anarmónica* que se muestra en la curva 2 de la Figura 16-3b. Estas curvas se apartan del comportamiento armónico en distintos grados, dependiendo de la naturaleza del enlace y de los átomos implicados. Obsérvese, sin embargo, que las cur-

vas armónicas y anarmónicas son casi iguales a energías potenciales bajas. Este hecho explica el éxito de los modelos y métodos descritos.

La oscilación anarmónica conduce a desviaciones de dos clases. A números cuánticos más altos, ΔE se hace menor (véase la curva 2 en la Figura 16-3b), y la regla de selección no se cumple rigurosamente; como resultado, se observan transiciones de $\Delta v = \pm 2$ o ± 3 . Estas transiciones son las responsables de la aparición de las *sobretonos* a frecuencias correspondientes al doble o triple de la frecuencia de la línea fundamental; a menudo la intensidad de estas líneas de absorción es baja, y los picos no llegan a observarse.

Los espectros vibracionales se complican también por el hecho de que dos vibraciones distintas de una misma molécula pueden interactuar mutuamente para dar picos de absorción con unas frecuencias que aproximadamente son la suma o la diferencia de sus frecuencias fundamentales. De nuevo en este caso, las intensidades de los picos de combinación y diferencia son, por lo general, bajas.

16A-4. Modos de vibración

De ordinario, en las moléculas sencillas, diatómicas y triatómicas, es posible deducir el número y las clases de vibraciones y si estas vibraciones provocarán una absorción. Las moléculas complejas pueden contener distintos tipos de átomos y enlaces; para estas moléculas, la gran cantidad de vibraciones posibles hace que los espectros de infrarrojo resulten muy difíciles o imposibles de analizar.

El número de vibraciones posibles en una molécula poliatómica se puede calcular como sigue. Si se necesitan tres coordenadas para localizar un punto en el espacio, para fijar N puntos se requieren tres coordenadas para cada uno, o sea un total de $3N$. Cada coordenada corresponde a un grado de libertad para uno de los átomos en una molécula poliatómica; por este motivo, si una molécula contiene N átomos, se dice que tiene $3N$ grados de libertad.

Para definir el movimiento de una molécula, se ha de considerar (1) el movimiento de toda la molécula en el espacio (es decir, el movimiento de traslación de su centro de gravedad), (2) el movimiento de rotación de la molécula alrededor de su centro de gravedad, y (3) el movimiento de cada uno de sus átomos con respecto a los otros átomos, o en otras palabras, sus vibraciones individuales.

Como todos los átomos de la molécula se mueven acompasadamente por el espacio, para definir el movimiento de traslación se requieren tres coordenadas y este movimiento requiere tres grados de libertad de los $3N$. Para describir la rotación de la molécula en su conjunto se necesitan otros tres grados de libertad. Los restantes $3N - 6$ grados de libertad están relacionados con el movimiento intramolecular y, por tanto, representan el número de vibraciones posibles en la molécula. Una molécula lineal es un caso especial, porque por definición todos los átomos se encuentran en una sola línea recta. En este caso no es posible la rotación alrededor del eje del enlace, y son suficientes dos grados de libertad para describir el movimiento rotatorio. Así, el número de vibraciones para una molécula lineal es de $3N - 5$. Cada una de las $3N - 6$ o $3N - 5$ vibraciones se denomina un *modo normal*.

Para cada modo normal de vibración existe un diagrama de energía potencial tal como el que se muestra con la línea continua en la Figura 16-3b. A cada uno de estos modos de vibración se le aplican las mismas reglas de selección explicadas anteriormente. Además, en la medida en que una vibración se aproxima al comportamiento armónico, las diferencias entre los niveles de energía de una determinada vibración son iguales; es decir, aparece un solo pico de absorción por cada vibración en la cual hay un cambio en el dipolo.

Cuatro factores son los que tienden a producir menos picos de absorción experimentales que los previstos teóricamente a partir del número de modos normales. Se encuentra un menor número de picos cuando (1) la simetría de las moléculas es tal que una vibración particular no produce cambios en el dipolo; (2) las energías de dos o más vibraciones son idénticas o casi idénticas; (3) la intensidad de absorción es tan baja que no es detectable por los medios ordinarios; o (4) la energía vibracional se encuentra en una región de longitudes de onda que cae fuera del intervalo de trabajo del instrumento.

De manera circunstancial, se pueden encontrar más picos de los esperados en relación con el número de modos normales. Ya se ha mencionado la existencia de sobretonos que se encuentran a unas frecuencias dos o tres veces mayores que la frecuencia del pico fundamental. Además, en algunas ocasiones se pueden encontrar las *bandas de combinación* cuando un fotón excita simultáneamente dos modos de vibración. La frecuencia de la banda de combinación es aproximadamente la suma o la diferencia de las dos frecuencias fundamentales.

Este fenómeno ocurre cuando son dos enlaces y no uno los que absorben un cuanto de energía.

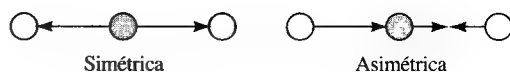
16A-5. Acoplamiento vibracional

La energía de una vibración y, por consiguiente, la longitud de onda de su pico de absorción, puede verse afectada (o estar acoplada) por otros osciladores de la molécula. Algunos factores influyen en el grado de estos acoplamientos.

1. Tan sólo ocurre un fuerte acoplamiento entre vibraciones de tensión cuando en las dos vibraciones hay un átomo común.
2. La interacción entre las vibraciones de flexión requiere un enlace común entre los grupos que vibran.
3. El acoplamiento entre una vibración de tensión y una vibración de flexión puede ocurrir si el enlace que sufre la tensión forma uno de los lados del ángulo que varía en la vibración de flexión.
4. La mayor interacción tiene lugar cuando las energías individuales de los grupos acoplados son aproximadamente iguales.
5. Se observa poca o ninguna interacción entre grupos separados por dos o más enlaces.
6. El acoplamiento requiere que las vibraciones pertenezcan al mismo grupo de simetría⁵.

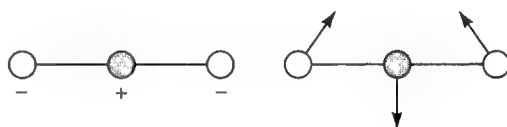
Como ejemplo de los efectos del acoplamiento, se considera el espectro infrarrojo del dióxido de carbono. Si no hubiera acoplamiento entre los dos enlaces C=O cabría esperar un pico de absorción con el mismo número de onda que el pico de vibración de tensión C=O de una cetona alifática (aproximadamente 1.700 cm^{-1} , o $6\text{ }\mu\text{m}$; véase el Ejemplo 16-1). Experimentalmente se observa que el dióxido de carbono presenta dos picos de absorción, uno de ellos a 2.330 cm^{-1} ($4,3\text{ }\mu\text{m}$) y el otro a 667 cm^{-1} ($15\text{ }\mu\text{m}$).

El dióxido de carbono es una molécula lineal y, por tanto, tiene $3 \times 3 - 5 = 4$ modos normales de vibración. Pueden darse dos vibraciones de tensión; además puede haber interacción entre ellas porque los enlaces implicados tienen un átomo de carbono común. Como puede observarse, una de las vibraciones es simétrica y la otra es asimétrica.



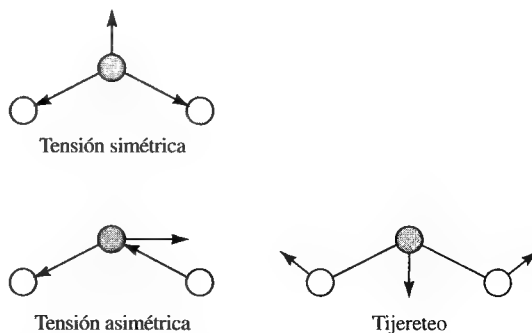
La vibración simétrica no provoca cambio alguno en el dipolo, porque los dos átomos de oxígeno se mueven simultáneamente alejándose o acercándose del átomo de carbono central. De este modo, la vibración simétrica es infrarrojo inactiva. En la vibración asimétrica un oxígeno se mueve alejándose del átomo de carbono a la vez que éste se acerca al otro oxígeno. Como consecuencia, hay un cambio neto periódico en la distribución de carga, que produce un cambio en el momento dipolar, que da como resultado una absorción a 2.330 cm^{-1} .

Los otros dos modos de vibración del dióxido de carbono son de tijereteo, tal como se ilustra a continuación.



Las dos vibraciones de flexión son las componentes resultantes, perpendiculares entre sí, de los movimientos de flexión en todos los planos posibles alrededor del eje del enlace. Las dos vibraciones son idénticas en energía y, por tanto, producen un único pico a 667 cm^{-1} . Los estados cuánticos idénticos, como en este caso, se dice que están *degenerados*.

Es interesante comparar el espectro del dióxido de carbono con el de una molécula no lineal, triatómica como el agua, el dióxido de azufre o el dióxido de nitrógeno. Estas moléculas tienen $3 \times 3 - 6 = 3$, modos de vibración con las siguientes características.



Debido a que el átomo central no está en línea con los otros dos, una vibración de tensión simétrica

⁵ Para un estudio de las operaciones de simetría y de los grupos de simetría, véase R. P. Bauman, *Absorption Spectroscopy*, Capítulo 10. New York: Wiley, 1962; F. A. Cotton, *Chemical Applications of Group Theory*. New York: Wiley, 1971.

producirá un cambio en el dipolo y por ello será responsable de la absorción en el infrarrojo. Por ejemplo, para las vibraciones simétrica y asimétrica de la molécula de agua, se observan los picos de tensión a 3.650 y 3.760 cm^{-1} ($2,74$ y $2,66\text{ }\mu\text{m}$). Para esta molécula no lineal sólo existe una vibración de tijereteo, debido a que el movimiento en el plano de la molécula constituye un grado de libertad rotacional. Para el agua, la vibración de flexión origina una absorción a 1.595 cm^{-1} ($6,27\text{ }\mu\text{m}$). El distinto comportamiento de las moléculas triatómicas lineales y no lineales con dos y tres picos de absorción, respectivamente, ilustra cómo puede, a veces, usarse la espectroscopia de absorción en el infrarrojo para deducir la forma de una molécula.

El acoplamiento de vibraciones es un fenómeno común; como resultado del mismo, no puede especificarse con exactitud la posición de un pico de absorción correspondiente a un grupo funcional orgánico determinado. Por ejemplo, la frecuencia de tensión C—O del metanol aparece a 1.034 cm^{-1} ($9,67\text{ }\mu\text{m}$); en el etanol a 1.053 cm^{-1} ($9,50\text{ }\mu\text{m}$) y en el 2-butanol a 1.105 cm^{-1} ($9,05\text{ }\mu\text{m}$). Estas variaciones son el resultado del acoplamiento de la vibración de tensión C—O con las vibraciones de tensión adyacentes C—C o C—H.

Si bien los efectos de la interacción pueden llevar a incertidumbres en la identificación de los grupos funcionales de un compuesto, es este mismo efecto el que confiere a un espectro de infrarrojo sus características únicas, que son tan importantes para la identificación definitiva de un compuesto determinado.

16B. FUENTES Y DETECTORES DE RADIACIÓN EN EL INFRARROJO

Los instrumentos para la medida de la absorción en el infrarrojo requieren una fuente de radiación en el infrarrojo continua y un detector sensible a la radiación en el infrarrojo. Las características deseables de esos componentes del instrumento se han indicado en los Apartados 7B y 7E. En este apartado se describen las fuentes y los detectores que podemos encontrar en los actuales instrumentos de infrarrojo.

16B-1. Fuentes

Las fuentes de radiación en el infrarrojo constan de un sólido inerte que se calienta eléctricamente a

una temperatura comprendida entre 1.500 y 2.200 K . Como resultado se obtiene una radiación continua que se aproxima a la del cuerpo negro (véase Fig. 6-18, página 141). A estas temperaturas la máxima intensidad radiante se produce entre 5.000 y 5.900 cm^{-1} (de 2 a $1,7\text{ }\mu\text{m}$). A longitudes de onda mayores, la intensidad decrece suavemente hasta llegar a ser el 1 por 100 del máximo a 670 cm^{-1} ($15\text{ }\mu\text{m}$). A longitudes de onda menores, la disminución es mucho más rápida, y se produce una reducción de intensidad similar a los 10.000 cm^{-1} ($1\text{ }\mu\text{m}$).

Emisor de Nernst

El emisor de Nernst está constituido por óxidos de tierras raras, que forman un cilindro con un diámetro de 1 a 2 mm y una longitud de unos 20 mm . En los extremos del cilindro se sellan unos cables de platino para permitir la conexión eléctrica, formando un conjunto que equivale a un elemento de calentamiento resistente. Cuando la corriente pasa por este dispositivo se alcanzan temperaturas comprendidas entre 1.200 y 2.200 K . El coeficiente térmico de la resistencia eléctrica del emisor de Nernst es muy negativo, y debe calentarse externamente hasta un color rojo pálido antes de que la corriente sea suficientemente elevada para mantener la temperatura deseada. Debido a que la resistencia disminuye con el aumento de temperatura, el circuito de la fuente se ha de diseñar para limitar la corriente; si no fuera así la lámpara se calentaría tanto que se destruiría.

La Figura 16-4 muestra la señal de salida espectral de un emisor de Nernst cuando funciona a aproximadamente 2.200 K . Obsérvese que la curva se parece a la de un cuerpo negro; los pequeños picos y valles dependen de la composición química del dispositivo.

Fuente Global

Un Global en una varilla de carburo de silicio, que por lo general tiene unos 50 mm de longitud y 5 mm de diámetro. Se calienta también eléctricamente (de 1.300 a 1.500 K) y tiene la ventaja de poseer un coeficiente térmico positivo. Por otra parte, es necesario enfriar los contactos eléctricos con agua para evitar la formación de un arco. Las energías espectrales del Global y del emisor de Nernst son semejantes, excepto en la región inferior a $5\text{ }\mu\text{m}$, donde el Global proporciona una señal de salida significativamente mayor.

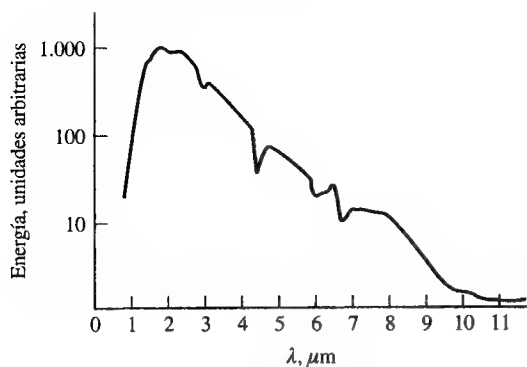


Figura 16-4. Distribución espectral de la energía procedente de un emisor de Nernst cuando funciona a aproximadamente 2.200 K.

Fuente de filamento incandescente

Se trata de una fuente de intensidad algo menor, pero de vida más larga que la fuente Global o el emisor de Nernst; consiste en una espiral muy apretada de alambre de nicromo, que se calienta por el paso de una corriente eléctrica a aproximadamente 1.100 K. Un filamento de rodio caliente y sellado a un cilindro de cerámica presenta propiedades semejantes a estas fuentes.

Arco de mercurio

Para la región espectral del infrarrojo lejano ($\lambda > 50 \mu\text{m}$), ninguna de las fuentes térmicas descritas hasta aquí proporcionan suficiente energía radiante para una detección adecuada. En este caso, se utiliza un arco de mercurio de alta presión. Este dispositivo consta de un tubo de cuarzo que contiene vapor de mercurio a una presión mayor que una atmósfera. El paso de la electricidad a través del vapor origina una fuente de plasma interna que proporciona una radiación continua en la región del infrarrojo lejano.

Lámpara de filamento de wolframio

Una lámpara de filamento de wolframio corriente es una fuente adecuada para la región del infrarrojo cercano de 4.000 a 12.800 cm^{-1} (de 2,5 a 0,78 μm).

Fuente láser de dióxido de carbono

Para el control de la concentración de ciertos contaminantes atmosféricos y para la determinación de especies absorbentes en disoluciones acuosas, se utiliza como fuente de infrarrojo un láser sintoniza-

ble de dióxido de carbono⁶. Un láser de dióxido de carbono produce una banda de radiación en el intervalo de 900 a 1.100 cm^{-1} (de 11 a 9 μm), que consta de unas 100 líneas discretas y poco espaciadas. Como se ha descrito en la página 159, cualquiera de esas líneas se puede elegir sintonizando el láser. Aunque el intervalo de longitudes de onda disponible es limitado, la región de 900 a 1.100 cm^{-1} es particularmente rica en bandas de absorción producidas por los modos de tensión interactivos del CO_2 . Por ello, esta fuente resulta útil para la determinación de algunas especies importantes como el amoníaco, butadieno, benceno, etanol, dióxido de nitrógeno y tricloroetileno. Una propiedad importante de la fuente láser es la potencia radiante disponible en cada línea, la cual es varios órdenes de magnitud mayor que la de las fuentes de cuerpo negro.

16B-2. Detectores de infrarrojo

Los detectores de infrarrojo son de tres tipos generales: (1) detectores térmicos; (2) detectores piroeléctricos (detectores térmicos muy especializados); (3) detectores fotoconductores. Los dos primeros se encuentran por lo común en los fotómetros y en los espectrofotómetros dispersivos. Los detectores fotoconductores, en los instrumentos multiplex de transformada de Fourier.

Detectores térmicos

Los detectores térmicos, cuya respuesta depende del efecto calorífico de la radiación, se emplean para la detección de todas las longitudes de onda del infrarrojo, excepto para las más cortas. Con estos dispositivos se mide el incremento de temperatura que resulta cuando un pequeño cuerpo negro absorbe la radiación. La potencia radiante del haz de un espectrofotómetro de infrarrojo es muy baja (10^{-7} a 10^{-9} W), por lo que la capacidad calorífica del elemento absorbente debe ser lo más pequeña posible para producir un cambio de temperatura detectable. Se hace todo lo posible para reducir al mínimo el tamaño y el espesor del elemento absorbente y concentrar todo el haz infrarrojo en su superficie. Bajo las mejores circunstancias, los cambios de temperatura se limitan a unas pocas milésimas de grado kelvin.

⁶ Véase H. R. Jones y P. A. Wilks Jr., *Amer. Lab.*, **1982**, 14 (3), 87; L. B. Kreuzer, *Anal. Chem.*, **1974**, 46, 239A.

El problema de la medida de radiación en el infrarrojo por medios térmicos se complica por el ruido térmico del medio circundante. Por este motivo, los detectores térmicos se mantienen al vacío y se protegen cuidadosamente de la radiación térmica emitida por otros objetos cercanos. Para minimizar aún más los efectos de fuentes caloríficas extrañas, el haz de la fuente se hace incidir de modo intermitente. De esta forma, la señal del analito, después de la transformación, tiene la frecuencia del cortador y se puede separar electrónicamente de las señales de ruido extrañas, las cuales varían sólo lentamente con el tiempo.

Termopares. En su forma más simple, un termopar consta de un par de uniones que se forman soldando los extremos de dos piezas de un metal como el bismuto, a otro metal distinto como el antimonio. Entre las dos uniones se genera un potencial que varía en función de su *diferencia* de temperatura.

La unión del detector sobre la que incide la radiación del infrarrojo se realiza con alambres muy finos o por evaporación de los metales sobre un soporte no conductor. En cualquier caso, la unión normalmente se ennegrece (para mejorar su capacidad de absorber calor), y se sella en una cámara de vacío con una ventana transparente a la radiación del infrarrojo.

La unión de referencia, que normalmente se aloja en la misma cámara que la unión activa, se diseña para que posea una capacidad calorífica relativamente grande y se protege cuidadosamente de la radiación incidente. Debido a que la señal del analito se hace intermitente, sólo es importante la diferencia de temperatura entre las dos uniones; en consecuencia, la unión de referencia no tiene por qué mantenerse a temperatura constante. Para aumentar la sensibilidad se pueden conectar varios termopares en serie para originar lo que se llama una *termopila*.

Un detector termopar bien diseñado, es capaz de responder a diferencias de temperatura de 10^{-6} K. Esta cifra corresponde a una diferencia de potencial de aproximadamente 6 a $8 \mu\text{V}/\mu\text{W}$. El termopar de un detector de radiación en el infrarrojo es un dispositivo de baja impedancia que por lo general se conecta a un preamplificador de alta impedancia como el circuito con un transistor de efecto de campo que se muestra en la Figura 16-5. También se puede emplear, como preamplificador en los circuitos del detector termopar, un amplificador

operacional seguidor de tensión, como el que se ha mostrado en la Figura 3-7.

Bolómetros. Un bolómetro es un tipo de termómetro de resistencia construido con láminas de metales como platino o níquel, o con un semiconductor; en este último caso se denomina *termistor*. Estos materiales presentan un cambio de resistencia relativamente grande con la temperatura. El elemento sensible es pequeño y está ennegrecido para absorber el calor radiante. Los bolómetros no se utilizan tanto como otros detectores de radiación en el infrarrojo para la región del infrarrojo medio. Sin embargo, un bolómetro de germanio, que trabaja a 1.5 K, es un detector ideal para la radiación comprendida en el intervalo de 5 a 400 cm^{-1} (de 2.000 a $25 \mu\text{m}$).

Detectores piroeléctricos

Los detectores piroeléctricos se construyen con láminas cristalinas de *materiales piroeléctricos*, que son aislantes (materiales dieléctricos) con unas propiedades térmicas y eléctricas especiales. En la construcción de detectores de radiación en el infrarrojo el material piroeléctrico más utilizado es el sulfato de triglicina $(\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH})_3 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ (normalmente deuterado o con una fracción de glicina sustituida por alanina).

Cuando se aplica un campo eléctrico a través de un material dieléctrico, tiene lugar la polarización eléctrica, cuya magnitud es función de la constante dieléctrica del material. Para la mayoría de los dieléctricos, esta polarización inducida decae a cero cuando se elimina el campo externo. Por el contrario, las sustancias piroeléctricas, mantienen una fuerte polarización dependiente de la temperatura después de eliminar el campo. De este modo, al colocar el cristal piroeléctrico entre dos electrodos, uno de los cuales es transparente a la radiación en el infrarrojo, se produce un condensador que depende de la temperatura. Al incidir la radiación en el infrarrojo cambia la temperatura y se altera la distribución de carga a través del cristal, lo que se puede detectar como una corriente en un circuito eléctrico externo conectado a las dos caras del condensador. La magnitud de esta corriente es proporcional al área de la superficie del cristal y a la velocidad de cambio de polarización con la temperatura. Los cristales piroeléctricos pierden su polarización residual cuando se calientan a una temperatura denominada el *punto de Curie*. Para el sulfato de triglicina el punto de Curie es 47°C .

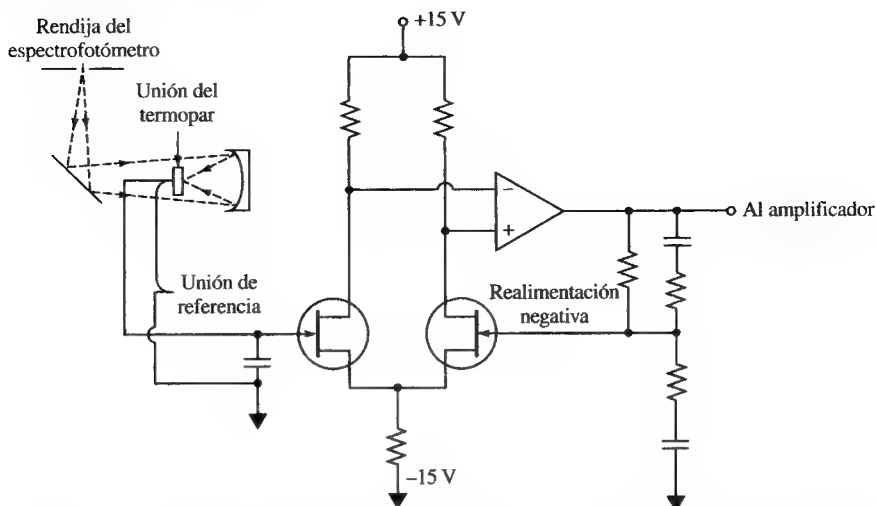


Figura 16-5. Termopar y preamplificador. (Adaptado con la autorización de G. W. Ewing, J. Chem. Educ., 1971, 48, A521.)

Los detectores piroeléctricos tienen unos tiempos de respuesta lo suficientemente rápidos como para poder seguir las variaciones de la señal en el dominio del tiempo de un interferómetro. Por este motivo, la mayoría de los espectrofotómetros de infrarrojo de transformada de Fourier emplean este tipo de detector.

Detectores fotoconductores

Los detectores fotoconductores constan de una delgada película de un material semiconductor como sulfuro de plomo, telururo de cadmio/mercurio o antimonio de indio, depositada sobre una superficie de vidrio no conductora y sellada en una cámara al vacío para proteger al semiconductor de la atmósfera. En estos materiales, la absorción de radiación impulsa electrones de valencia no conductores a estados conductores de mayor energía, disminuyendo así la resistencia eléctrica del semiconductor. Por lo común, un fotoconductor se coloca en serie con una fuente de potencial y una resistencia de carga y la caída de potencial a través de la resistencia de carga sirve como medida de la potencia del haz de radiación.

Los fotoconductores de sulfuro de plomo son los transductores más utilizados para la región espectral del infrarrojo cercano de 10.000 a 333 cm^{-1} (de 1 a $3\text{ }\mu\text{m}$). Pueden funcionar a temperatura ambiente. Los detectores fotoconductores de telururo de cadmio/mercurio se utilizan para la radiación del infrarrojo medio y lejano. Estos detectores se

deben de enfriar con nitrógeno líquido (77 K) para minimizar el ruido térmico. Las longitudes de onda de corte y otras muchas propiedades de estos detectores dependen de la relación telururo de mercurio/telururo de cadmio, la cual se puede modificar continuamente.

El detector de telururo de cadmio/mercurio, que ofrece unas características de respuesta superiores a las de los detectores piroeléctricos discutidos en el apartado previo, encuentra también una gran aplicación en los espectrómetros de transformada de Fourier, en particular aquellos que se acoplan a equipos de cromatografía de gases.

16C. INSTRUMENTOS DE INFRARROJO

Para las medidas de absorción en el infrarrojo existen tres tipos de instrumentos disponibles comercialmente: (1) espectrofotómetros dispersivos de red que se utilizan principalmente para el análisis cualitativo; (2) instrumentos multiplex, que emplean la transformada de Fourier (Apartado 7I), que resultan adecuados para las medidas en el infrarrojo tanto cualitativas como cuantitativas; (3) fotómetros no dispersivos que se han desarrollado para la determinación cuantitativa de diversas especies orgánicas en la atmósfera por espectroscopia de absorción, de emisión y de reflectancia.

Hasta los años ochenta, los instrumentos para medidas en el infrarrojo más utilizados fueron los

espectrofotómetros dispersivos. Ahora, sin embargo, han sido enormemente desplazados por los espectrómetros de transformada de Fourier, por su rapidez, fiabilidad y comodidad. Sólo cuando el precio es una cuestión importante se siguen empleando los instrumentos dispersivos.

16C-1. Espectrómetros de transformada de Fourier

En el Apartado 7I-1 se han tratado con cierto detalle las bases teóricas y las ventajas inherentes de los instrumentos multiplex, y antes de continuar, le puede ser útil al lector revisar dicho apartado. Para la región del infrarrojo se han descrito dos tipos de instrumentos multiplex. En uno de ellos, la codificación, se consigue dividiendo la fuente en dos haces con trayectorias que pueden variar su longitud periódicamente para dar modelos de interferencia. La transformada de Fourier se utiliza para el tratamiento de los datos⁷. El segundo tipo es el espectrómetro de transformada de Hadamard, el cual es un instrumento dispersivo que emplea una plantilla móvil en el plano focal del monocromador para codificar los datos espectrales. Los instrumentos de infrarrojo de transformada de Hadamard no han tenido una gran aplicación, y por ello no se tratarán en este texto⁸.

Cuando los espectrómetros de infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR) aparecieron por primera vez en el mercado, eran voluminosos, caros (>100.000 \$), y requerían frecuentes ajustes mecánicos. Por este motivo, su uso se limitó a aplicaciones especiales donde sus características únicas (rapidez, alta resolución, sensibilidad, y una

precisión y exactitud de la longitud de onda incomparables) eran esenciales. En la actualidad, los instrumentos de transformada de Fourier han reducido su tamaño y se han convertido en equipos fiables y de fácil mantenimiento. Además, el precio de los modelos más simples ha disminuido hasta el punto de ser competitivos con todos los instrumentos dispersivos excepto con los más sencillos (de 15.000 a 20.000 \$). Por estas razones, los instrumentos de transformada de Fourier están desplazando, en gran medida, a los instrumentos dispersivos⁹.

Componentes de los instrumentos de transformada de Fourier

La mayoría de los instrumentos de infrarrojo de transformada de Fourier disponibles comercialmente se basan en el interferómetro de Michelson, aunque también se encuentran otros tipos de sistemas ópticos. Se considerará solamente el diseño de Michelson, que se ilustra en la Figura 7-42, página 197¹⁰.

Mecanismo de tracción. Para la obtención de interferogramas satisfactorios (y en consecuencia de espectros satisfactorios), es necesario que la velocidad del espejo móvil sea constante y que su posición se conozca exactamente en cualquier instante. También debe permanecer constante la verticalidad del espejo respecto a la trayectoria del haz a lo largo de todo el recorrido de 10 cm o más.

En la región del infrarrojo lejano, donde el intervalo de longitudes de onda es de 50 a 1.000 μm (de 200 a 10 cm^{-1}) se pueden conseguir desplazamientos del espejo de fracciones de longitud de onda y la medida exacta de su posición mediante un tornillo micrométrico accionado con un motor. Sin embargo, para las regiones del infrarrojo medio y cercano se requieren mecanismos más precisos y sofisticados. En este caso, el soporte del espejo está suspendido sobre cojinetes de aire sujetos a unos manguitos de acero inoxidable (véase Fig. 16-6). Este montaje se acciona por medio de un motor de tracción lineal y una bobina electromagnética semejante a la de un altavoz; el espejo se mueve a

⁷ Para una discusión detallada de la espectroscopia de infrarrojo de transformada de Fourier, véase B. C. Smith, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*. Boca Raton: CRC Press, 1996; P. R. Griffiths y J. A. deHaseth, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, New York: Wiley, 1986; *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, J. Ferraro y L. Basile, Eds. New York: Academic Press, 1979. Para artículos de revisión, véase W. D. Perkins, *J. Chem. Educ.*, **1986**, 63, A269; L. Glaser, *J. Chem. Educ.*, **1987**, 64, A228, A260.

⁸ Para una descripción de la transformada de Hadamard y de los espectrómetros de transformada de Hadamard, véase M. O. Harwit y N. J. A. Sloane, *Hadamard Transform Optics*. New York: Academic Press, 1979; *Transform Techniques in Chemistry*, P. R. Griffiths, Ed. New York: Plenum Press, 1978. Para una revisión reciente de las aplicaciones analíticas de la transformada de Hadamard, véase P. J. Treado y M. D. Morris, *Anal. Chem.*, **1989**, 61, 723A.

⁹ Véase S. A. Borman, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 1054A.

¹⁰ El interferómetro de Michelson se diseñó y construyó en 1891 por A. A. Michelson, que fue galardonado con el Premio Nobel de Física en 1907 por el descubrimiento de la interferometría.

una velocidad constante por medio de una corriente creciente en la bobina. Al alcanzar el extremo final, el espejo regresa rápidamente al punto de partida para el próximo barrido mediante una rápida inversión de la corriente. La longitud del recorrido varía de 1 a unos 20 cm y las velocidades de barrido oscilan de 0,01 a 10 cm/s.

Para que el sistema del espejo funcione satisfactoriamente se requieren dos características adicionales. La primera es que el sistema pueda muestrear el interferograma a intervalos de desfase exactamente definidos. La segunda es que se pueda determinar con exactitud el punto de desfase cero para hacer posible el promediado de las señales. Si no se conoce con exactitud este punto, las señales de los barridos repetidos no estarán en fase; el promediado tiende a degradar la señal en lugar de mejorarla.

El problema del muestreo preciso de la señal y de su promediado puede lograrse mediante el uso de tres interferómetros en vez de uno y con un único montaje de espejos que contiene a los tres espejos móviles. En la Figura 16-6 se muestra un esquema de esta disposición. Los componentes y las trayectorias de la radiación para cada uno de los tres sistemas interferométricos se indican, respectivamente, con los subíndices 1, 2 y 3. El sistema 1 es el sistema de infrarrojo que proporciona final-

mente un interferograma semejante al que se muestra en la curva A de la Figura 16-7. El sistema 2, también denominado sistema de *referencia de franjas láser*, proporciona la información para el intervalo de muestreo. Dicho sistema consta de un láser de helio/neón S_2 , un sistema interferométrico con dos espejos MM_2 y M_2 , un divisor del haz B_2 y un detector T_2 . La señal de salida de este sistema es sinusoidal (onda coseno), como se indica en la parte C de la Figura 16-7. Esta señal se convierte electrónicamente en la onda de forma cuadrada que se muestra en D; el muestreo comienza y termina en cada intersección sucesiva en el cero. El sistema de referencia de franjas láser proporciona intervalos de muestreo muy reproducibles y regularmente espaciados. En la mayoría de los instrumentos, la señal láser se utiliza también para mantener constante la velocidad del sistema que acciona los espejos.

El tercer sistema interferométrico llamado, a veces, de *luz blanca*, emplea una fuente de wolframio S_3 y un detector T_3 sensible a la radiación visible. Su sistema de espejo se fija de modo que se produzca un desfase cero desplazado hacia la izquierda con respecto al de la señal analítica (véase el interferograma B, Fig. 16-7). Como la fuente es policromática, su potencia cuando el desfase es cero es mucho mayor que cualquier señal anterior y posterior a este punto. De esta forma, se puede uti-

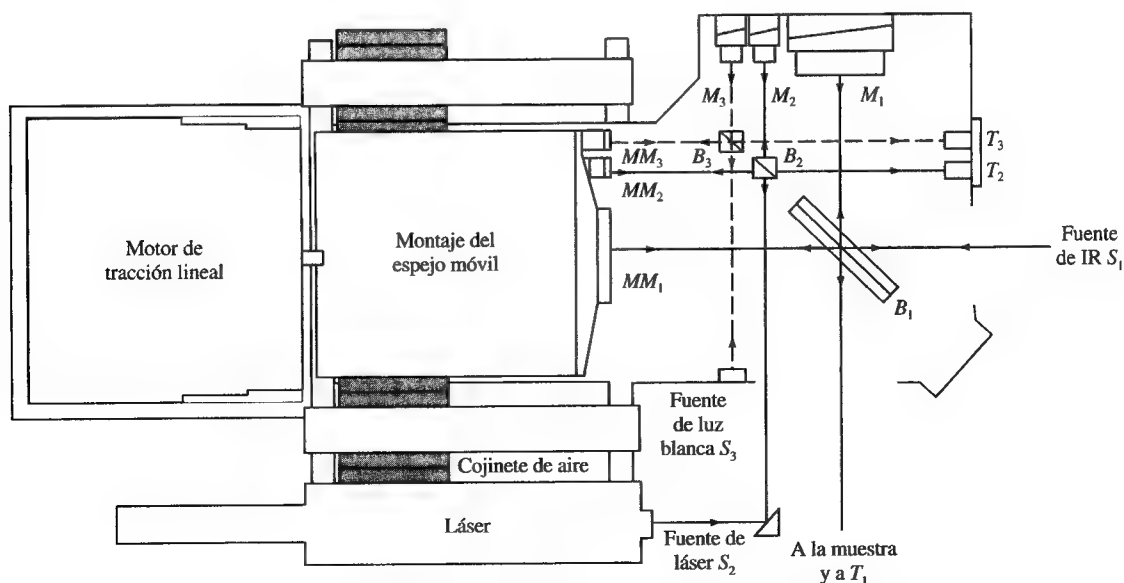
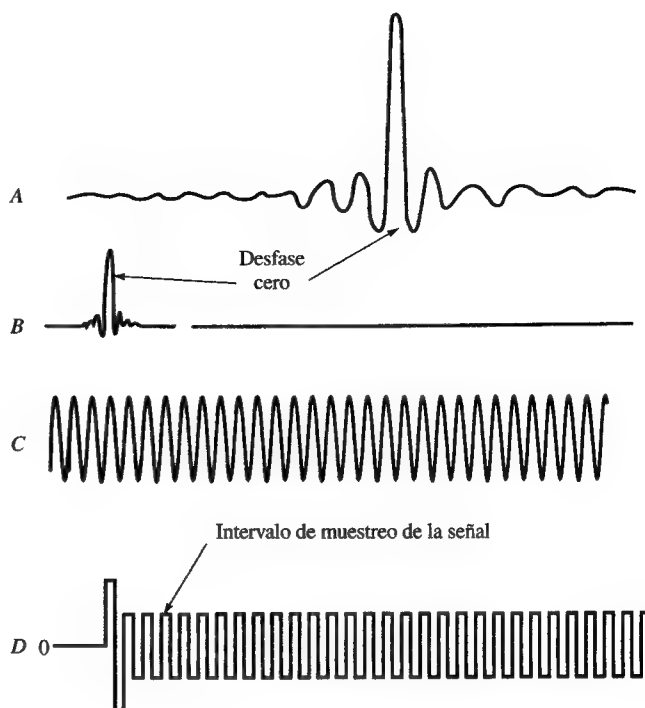


Figura 16-6. Interferómetros en un espectrómetro infrarrojo de transformada de Fourier. Los subíndices 1 indican la trayectoria de la radiación en el interferómetro de infrarrojo; los subíndices 2 y 3 se refieren a los interferómetros de láser y de luz blanca respectivamente. (Cortesía de Nicolet Analytical Instruments, Madison, WI.)

Figura 16-7. Señales en el dominio del tiempo para los tres interferómetros contenidos en un instrumento de infrarrojo con la transformada de Fourier. Curva A: señal de infrarrojo; curva B: señal de luz blanca; curva C: señal de referencia de la franja de láser; curva D: señal eléctrica de onda cuadrada obtenida a partir de la señal del láser. (De P. R. Griffiths, *Chemical Infrared Fourier Transform Spectroscopy*, pág. 102. New York: Wiley, 1975. Reproducido con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)



lizar este máximo para desencadenar el inicio del muestreo de los datos para cada barrido en un punto altamente reproducible.

El triple sistema interferométrico que se ha descrito permite una considerable precisión en la determinación de las frecuencias espectrales que supera significativamente la que se consigue con los instrumentos de red convencionales. Esta elevada reproducibilidad es particularmente importante cuando se han de promediar muchos barridos. En la actualidad existen instrumentos, como el que se muestra en la Figura 16-8 que son capaces de dar la misma precisión en las frecuencias con un único interferómetro. En este caso el haz láser es paralelo o colineal con el haz infrarrojo, de tal forma que ambos haces atraviesan un único interferómetro. Además, no se emplea fuente de luz blanca, y el interferograma de infrarrojo se utiliza para establecer el punto de desfase cero. El máximo en el interferograma de infrarrojo es una referencia excelente debido a que éste es el único punto donde todas las longitudes de onda interfieren constructivamente.

El sistema que se muestra en la Figura 16-6 es capaz de proporcionar espectros con una resolución comprendida entre $0,1$ y 1 cm^{-1} . Para obtener resoluciones de $0,01\text{ cm}^{-1}$ se necesita un sistema más

s sofisticado con el fin de mantener la alineación del espejo móvil. Uno de los sistemas de alineamiento del espejo utiliza tres sistemas de referencia con franja láser en lugar de uno solo, los cuales se dirigen a puntos distintos sobre el espejo móvil. Debido a que tres puntos definen un plano, el uso de los tres láseres aumenta de manera significativa la exactitud con la que se conoce en cada instante la posición y la orientación del espejo móvil.

Divisores del haz. Los divisores del haz están contruidos con materiales transparentes con índices de refracción tales que aproximadamente el 50 por 100 de la radiación se refleja, y el 50 por 100 se transmite. Un material que se utiliza mucho en la región del infrarrojo lejano, es una delgada película de Mylar que se coloca entre dos placas de un sólido de bajo índice de refracción. Para la región del infrarrojo medio se obtienen buenos resultados con películas delgadas de germanio o silicio, depositados sobre bromuro o yoduro de cesio, cloruro de sodio o bromuro de potasio. Para trabajar en el infrarrojo cercano se utiliza una película de óxido de hierro (III) que se deposita sobre fluoruro de calcio.

Fuentes y detectores. Las fuentes para los instrumentos de infrarrojo de transformada de Fourier

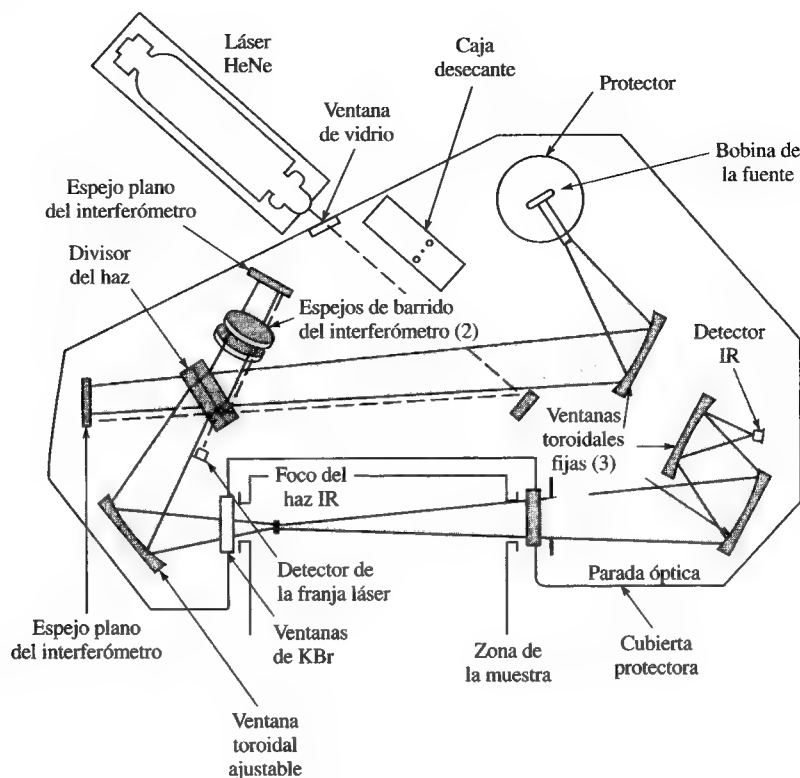


Figura 16-8. Espectrómetro FTIR de un solo haz. (Cortesía de Perkin-Elmer, Norwalk, CT.)

son semejantes a las que se han descrito al comienzo de este capítulo. Por lo general, los detectores térmicos no se adaptan fácilmente a los instrumentos de transformada de Fourier debido a su tiempo de respuesta lento. Los detectores piroeléctricos de sulfato de triglicina se utilizan ampliamente para la región del infrarrojo medio. Cuando se necesitan mejores sensibilidades o tiempos de respuesta más rápidos se emplean los detectores fotoconductores de telururo de cadmio/mercurio o de antimonio de indio enfriados con nitrógeno líquido.

Diseños de instrumentos

Los espectrómetros de infrarrojo de transformada de Fourier son, por lo general, instrumentos de un solo haz. La Figura 16-8 muestra la óptica de un espectrómetro no muy caro, de 16.000 a 20.000 \$. Un procedimiento típico para determinar la transmitancia o la absorbancia con este tipo de instrumento consiste, en primer lugar, en la obtención de un interferograma de referencia mediante barridos de una referencia (generalmente aire) 20 o 30 ve-

ces, acumulando los datos, y almacenando los resultados en la memoria del ordenador del instrumento (por lo general después de convertirlos en el espectro). A continuación se coloca la muestra en la trayectoria de la radiación y se repite el proceso. Se calcula la relación entre los datos espectrales de la muestra y la referencia, y se obtiene la transmitancia a distintas frecuencias. Por lo general, las modernas fuentes y detectores para el infrarrojo son lo suficientemente estables como para que los espectros de referencia se tengan que obtener sólo ocasionalmente.

Características de funcionamiento de los instrumentos comerciales

Algunos fabricantes ofrecen varios modelos de instrumentos de infrarrojo de transformada de Fourier. El más barato tiene un intervalo de trabajo de 7.800 a 350 cm^{-1} (de $1,3$ a $29\text{ }\mu\text{m}$) con una resolución de 4 cm^{-1} que se consigue en un tiempo de barrido tan breve como un segundo. Los instrumentos más caros, con detectores, fuentes y diviso-

res de haz intercambiables ofrecen intervalos de frecuencia más amplios y mayores resoluciones. Por ejemplo, existe un instrumento que produce espectros desde el infrarrojo lejano (10 cm^{-1} o $1.000\text{ }\mu\text{m}$) hasta la región visible, 25.000 cm^{-1} o 400 nm . En los instrumentos comerciales, las resoluciones varían desde 8 hasta menos de $0,01\text{ cm}^{-1}$. Cuando se trata de las resoluciones más elevadas se necesitan varios minutos para obtener un espectro completo¹¹.

Ventajas de los espectrómetros de transformada de Fourier¹²

Los instrumentos de transformada de Fourier, con respecto a la mayoría de los del intervalo espectral infrarrojo medio, presentan una relación señal/ruido que supera la de los instrumentos dispersivos de buena calidad en más de un orden de magnitud. El aumento del cociente señal/ruido, por supuesto, puede tener interés para un barrido rápido, pudiéndose obtener, en la mayoría de los casos, buenos espectros en pocos segundos. Los instrumentos interferométricos también se caracterizan por sus altas resoluciones ($<0,1\text{ cm}^{-1}$), y por la elevada exactitud y reproducibilidad en la determinación de las frecuencias. Esta última propiedad es particularmente útil cuando se restan los espectros para las correcciones del fondo.

Una ventaja teórica de los instrumentos de transformada de Fourier es que su óptica hace posible la llegada al detector de una radiación de mayor potencia (uno o dos órdenes de magnitud) que la de los instrumentos dispersivos, en los cuales está limitada por la necesidad de usar anchuras de rendija pequeñas. Sin embargo, esta ganancia potencial se compensa parcialmente por la menor sensibilidad de los detectores de respuesta rápida que se requieren para las medidas interferométricas. Finalmente, se debe subrayar que los interferómetros no tienen el problema de la radiación parásita, porque cada frecuencia del infrarrojo se modula, de hecho, a una frecuencia diferente.

Las áreas de la química en las que las características adicionales de los instrumentos interferométricos parecen ser especialmente relevantes son:

(1) trabajos que requieren muy alta resolución, que corresponde a mezclas de gases que tienen espectros complejos como consecuencia de la superposición de las bandas vibracionales y rotacionales, (2) estudio de muestras que presentan absorbancias elevadas, (3) estudio de sustancias con bandas de absorción débiles (por ejemplo, el estudio de compuestos que se absorben químicamente en la superficie de los catalizadores), (4) investigaciones que requieren barridos rápidos como los estudios cinéticos, o la detección de los eluyentes cromatográficos, (5) obtención de datos de infrarrojo con muestras de muy pequeño tamaño; (6) obtención de espectros de reflexión y (7) estudios de emisión en el infrarrojo.

16C-2. Instrumentos dispersivos

Los espectrofotómetros de infrarrojo dispersivos que se encuentran en el comercio son por lo general instrumentos de doble haz con registrador, que utilizan redes de reflexión para la dispersión de la radiación. Tal como se ha subrayado en el Apartado 13D-2, el diseño de doble haz es menos exigente con respecto a las características de funcionamiento de las fuentes y detectores: característica importante dada la intensidad relativamente baja de las fuentes de infrarrojo, la baja sensibilidad de los detectores de infrarrojo y la consecuente necesidad de amplificar mucho la señal.

En la Figura 16-9 se ilustra una razón adicional para el uso generalizado de los instrumentos de doble haz en la región del infrarrojo. La curva inferior pone de manifiesto la absorción del agua y del dióxido de carbono atmosféricos en algunas regiones espectrales importantes, lo que puede provocar serios problemas de interferencias. La curva superior muestra cómo el haz de referencia compensa casi perfectamente la absorción de ambos compuestos, lo que resulta en una línea base estable al 100 por 100 de T .

Por lo general, los espectrofotómetros de infrarrojo dispersivos incorporan un cortador de baja frecuencia (de 5 a 13 ciclos por minuto) que permite al detector discriminar entre la señal de la fuente y las señales de radiación extraña, tales como la emisión de radiación en el infrarrojo de los distintos objetos que rodean al detector. Debido a los tiempos de respuesta lentos de los detectores de infrarrojo utilizados en la mayoría de los instrumentos dispersivos, se requieren velocidades bajas del cortador. En ge-

¹¹ D. Noble, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 381A.

¹² Para una comparación de las características de funcionamiento de los instrumentos interferométricos y los dispersivos, véase D. H. Chenery y N. Sheppard, *Appl. Spectrosc.*, **1978**, 32, 79; W. D. Perkins, *J. Chem. Educ.*, **1987**, 64, A269.

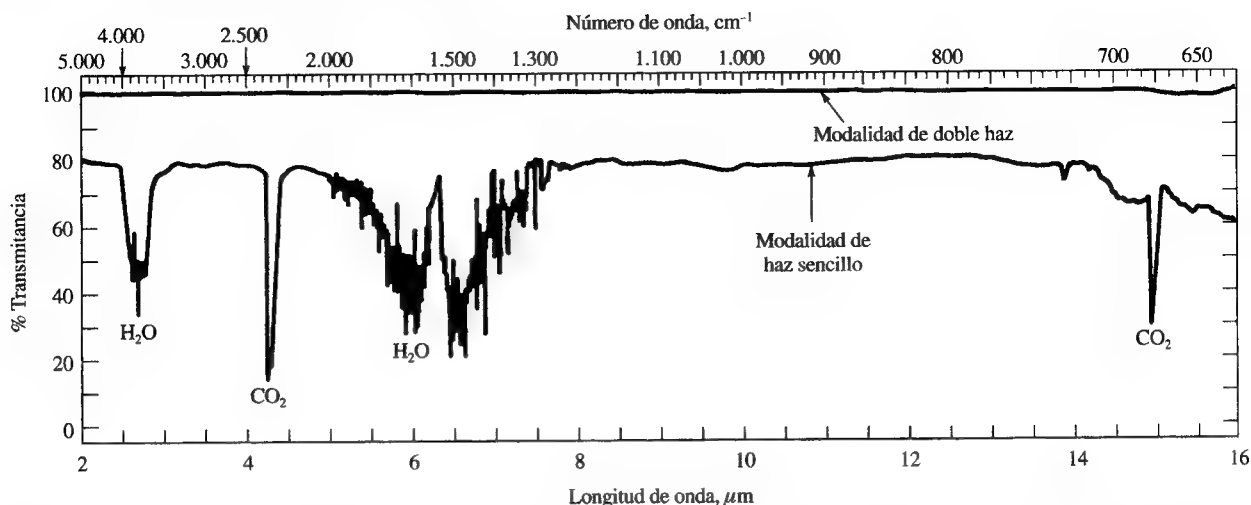


Figura 16-9. Espectros de vapor de agua y CO_2 atmosféricos obtenidos con instrumentos de haz sencillo y de doble haz. En la parte inferior, la señal de un solo haz, es evidente la absorción por los gases atmosféricos. En la parte superior, la señal de doble haz muestra cómo el haz de referencia compensa casi perfectamente esta absorción y permite obtener una línea base estable 100 por 100 T .

neral, los diseños ópticos de los instrumentos dispersivos no difieren demasiado de los espectrofotómetros ultravioleta/visible de doble haz estudiados en los Capítulos 7 y 13, excepto en que en los instrumentos de infrarrojo el compartimento de la muestra y de la referencia se colocan siempre entre la fuente y el monocromador. Esta disposición es posible debido a que la radiación en el infrarrojo, a diferencia de la radiación ultravioleta/visible, no es suficientemente energética para provocar la descomposición fotoquímica de la muestra. No obstante, colocar la muestra y la referencia delante del monocromador tiene la ventaja de que la mayor parte de la radiación dispersada, que se genera dentro del compartimento de las cubetas, se elimina por el monocromador y, así, no alcanza el detector.

La Figura 16-10 muestra esquemáticamente la disposición de los componentes en un espectrofotómetro infrarrojo característico. Como la mayoría de los instrumentos de infrarrojo dispersivos más económicos, es de tipo nulo, en el cual la potencia del haz de referencia se reduce, o *atenúa*, para igualarse a la del haz que atraviesa la muestra. La atenuación se consigue incluyendo un dispositivo que elimina continuamente una fracción variable del haz de referencia. El atenuador, por lo común, tiene la forma de un peine, cuyas púas se afilan para que haya una relación lineal entre el movimiento lateral del peine y la disminución de la potencia del haz. El peine se mueve cuando el de-

tector observa una diferencia entre la potencia de los dos haces. Este movimiento está sincronizado con la plumilla del registrador para que su posición dé una medida de la potencia relativa de los dos haces y, de este modo, de la transmitancia de la muestra.

Obsérvese que hay tres tipos de sistemas de conexión entre los componentes del instrumento en la Figura 16-10: (1) una conexión por radiación, indicada con líneas de trazos; (2) una conexión mecánica, representada por líneas oscuras gruesas y (3) una conexión eléctrica, indicada por líneas continuas estrechas.

La radiación que procede de la fuente se divide en dos haces, una mitad pasa por el compartimento de la cubeta de la muestra y la otra mitad por la zona de la referencia. El haz de referencia pasa luego por el atenuador y se dirige hacia un cortador. El cortador consta de un disco accionado por un motor que alternativamente refleja el haz de referencia o transmite el haz que proviene de la muestra hacia el monocromador. Después de la dispersión en la red, los haces alternativos llegan al detector y se convierten en una señal eléctrica. La señal se amplifica y pasa al rectificador sincrónico, un dispositivo que está acoplado mecánica o eléctricamente al cortador de forma que el interruptor del rectificador y el haz que sale del cortador cambien simultáneamente. Si los dos haces tienen la misma potencia, la señal procedente del rectificador es

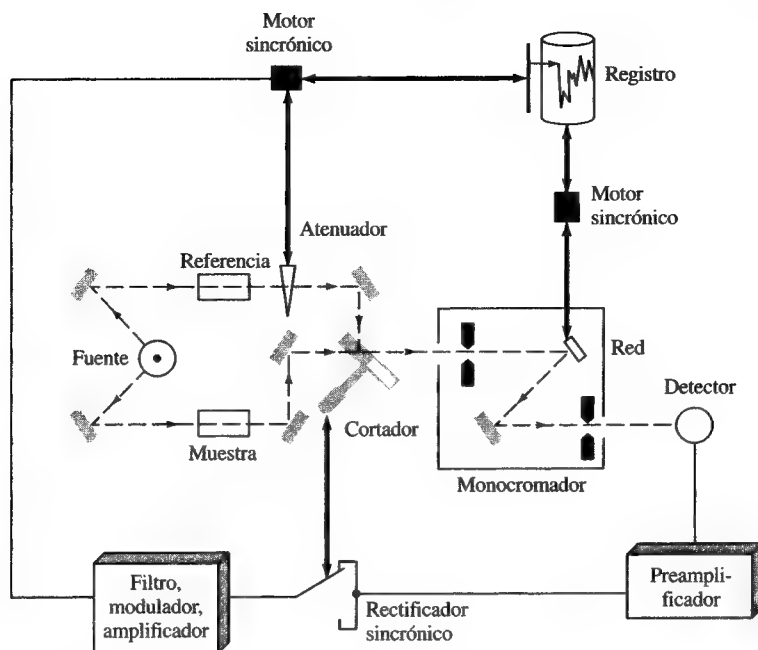


Figura 16-10. Esquema de un espectrofotómetro de doble haz. Las líneas oscuras indican una conexión mecánica; las líneas delgadas una conexión eléctrica; las líneas discontinuas indican la trayectoria de la radiación.

una corriente continua constante. Si, por el contrario, la potencia los dos haces difiere, se produce una corriente alterna o fluctuante, cuya fase está determinada por el haz más intenso. La corriente que procede del rectificador se filtra y amplifica aún más para impulsar a un motor sincrónico en una dirección u otra, dependiendo de la fase de la corriente de entrada. El motor sincrónico está conectado mecánicamente al atenuador y a la pluma del registrador, y hace que ambos se muevan hasta que se alcanza el punto nulo. Un segundo motor sincrónico mueve el papel y varía la longitud de onda simultáneamente. Por lo general, existe una conexión mecánica entre los sistemas que controlan la longitud de onda y la rendija, de modo que la potencia radiante que llega al detector se mantenga aproximadamente constante variando la anchura de la rendija.

Un sistema atenuador del haz de referencia, tal como el que se ha descrito, es el origen de tres limitaciones en el funcionamiento de los instrumentos de infrarrojo dispersivos. Primera, la respuesta del atenuador siempre se retrasa respecto a los cambios de transmitancia, en especial en las regiones de barrido donde la señal cambia rápidamente. Segunda, el momento asociado con el ate-

nuador mecánico y con el sistema registrador, puede originar con el movimiento de la pluma un valor de transmitancia fuera de escala. Tercera, en las regiones donde la transmitancia se aproxima a cero, casi no llega radiación al detector, no puede establecerse con exactitud la posición nula. El resultado es una respuesta poco definida del detector y unos picos redondeados. La Figura 16-11 ilustra la transmitancia fuera de escala y los picos redondeados en las regiones de baja transmitancia (1.700 y 3.000 cm^{-1}).

16C-3. Instrumentos no dispersivos

Para el análisis cuantitativo en el infrarrojo se han diseñado algunos instrumentos sencillos y robustos. Unos son sencillos fotómetros de filtro o no dispersivos; otros son instrumentos que emplean filtros de cuña en lugar de un elemento dispersante para proporcionar espectros completos; y otros no emplean ningún elemento de selección de la longitud de onda. Por lo general, estos instrumentos son menos complicados, más resistentes, más fáciles de mantener y más baratos que los instrumentos que se han descrito hasta aquí en este capítulo.

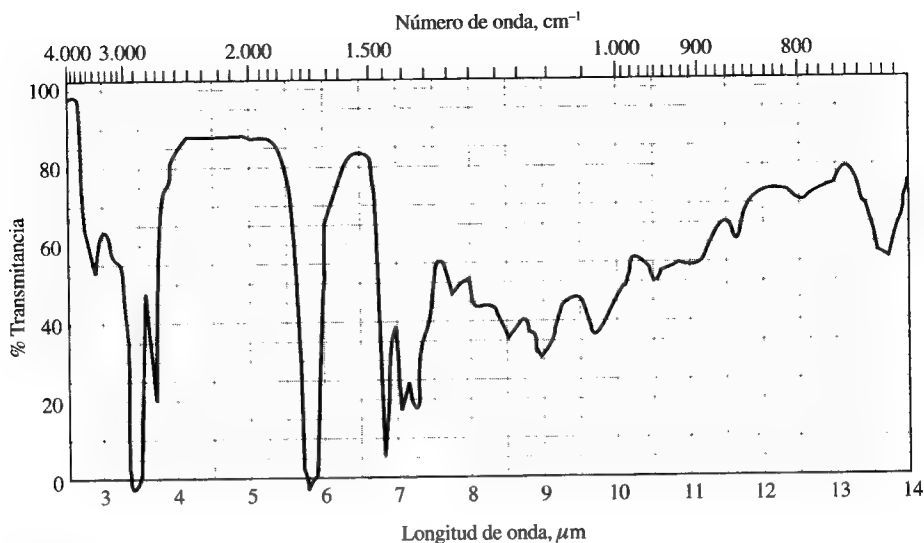


Figura 16-11. Espectro infrarrojo del *n*-hexanal ilustrando el registro fuera de escala a valores bajos de %*T*.

Fotómetros de filtro¹³

La Figura 16-12 muestra un esquema de un fotómetro de infrarrojo portátil de filtro (peso = 8 kg) diseñado para el análisis cuantitativo de distintas sustancias orgánicas en la atmósfera. La fuente es una varilla de cerámica rodeada de un alambre de nicromo; el detector es un dispositivo piroeléctrico. Se dispone de una variedad de filtros de interferencia que transmiten en el intervalo comprendido entre 3.000 y 750 cm^{-1} (de 3,3 a 13 μm); cada uno de ellos está diseñado para la determinación de

un compuesto específico. Estos filtros se pueden intercambiar con facilidad.

La muestra gaseosa se introduce dentro de la cubeta por medio de una bomba accionada por una batería. El camino óptico de la cubeta es de 0,5 m, una serie de espejos reflectantes (que no muestra la Figura 16-12) permiten aumentar la longitud de la cubeta hasta 20 m en incrementos de 1,5 m. Esta característica aumenta considerablemente el intervalo de concentraciones para los que el instrumento se puede utilizar.

Según se ha publicado, este fotómetro es sensible a pocas décimas de partes por millón de compuestos tales como acrilonitrilo, hidrocarburos clo-

¹³ Véase P. A. Wilks, *Amer. Lab.*, **1994** (12), 44; *Proc. Control Qual.*, **1992**, 3, 283.

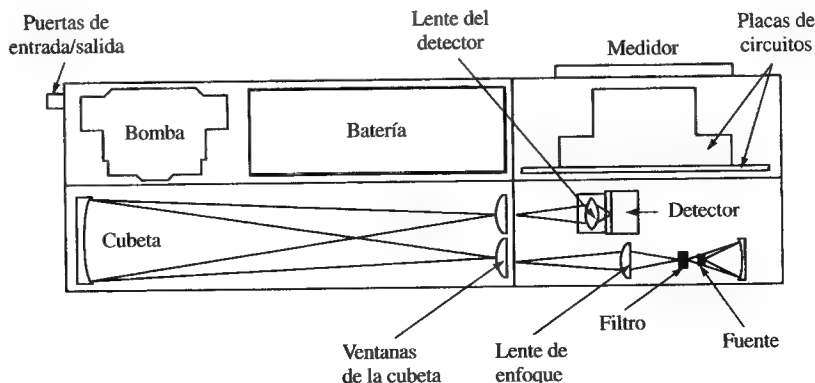


Figura 16-12. Fotómetro infrarrojo portátil diseñado para el análisis de gases. (Cortesía de The Foxboro Company, Foxboro, MA.)

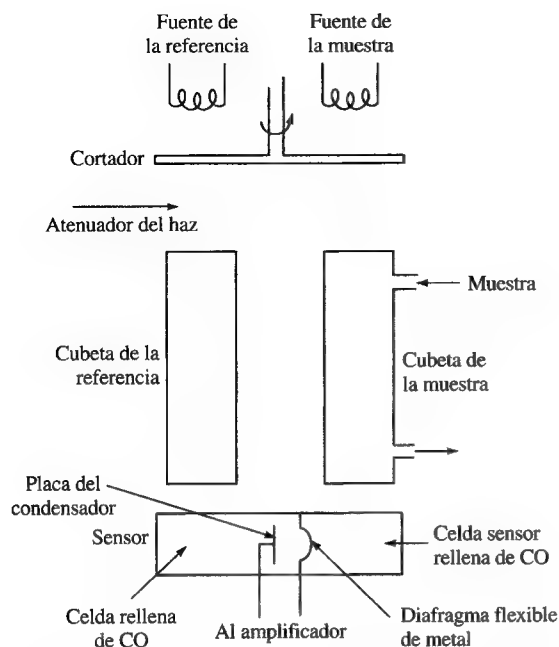


Figura 16-13. Fotómetro de infrarrojo no dispersivo para el control del monóxido de carbono.

radós, monóxido de carbono, fosgeno y cianuro de hidrógeno.

Fotómetros sin filtro

Los fotómetros que no emplean ningún dispositivo para seleccionar la longitud de onda se utilizan mucho para controlar un componente determinado en corrientes de gases¹⁴. La Figura 16-13 muestra un instrumento no dispersivo característico, diseñado para la determinación de monóxido de carbono en una mezcla gaseosa. La cubeta de referencia es un recipiente sellado que contiene un gas no absorbente; tal como se muestra en la figura, la muestra fluye a través de una segunda cubeta de igual longitud. La hoja del cortador está dispuesta de tal manera, que los haces que provienen de fuentes idénticas se cortan simultáneamente a una velocidad de unas cinco veces por segundo. La selectividad se logra llenando ambos compartimentos de la *celda del sensor* con el gas que se desea analizar, en este caso, el monóxido de carbono. Las dos cámaras del detector se separan por un diafragma metálico delgado y flexible que funciona como la placa de un

condensador; la segunda placa está en el compartimento del sensor, a la izquierda.

Cuando no hay monóxido de carbono dentro de la cubeta de muestra, las dos cámaras del sensor se calientan por igual con la radiación en el infrarrojo que proviene de las dos fuentes. Sin embargo, si la muestra contiene monóxido de carbono, el haz del lado derecho resulta algo atenuado y la cámara del sensor correspondiente se enfría algo más que la cámara de referencia; en consecuencia, se produce un movimiento del diafragma hacia la derecha y un cambio en la capacidad del condensador. Este cambio se detecta mediante el sistema amplificador, cuya señal de salida actúa sobre un servomotor que mueve el atenuador del haz de referencia hasta que ambos compartimentos estén nuevamente a la misma temperatura. De esta forma, el instrumento trabaja como un dispositivo de tipo nulo. El cortador sirve para proporcionar una señal de corriente alterna, que es menos sensible a la deriva y al ruido 1/f.

El instrumento es muy selectivo debido a que el calentamiento del gas del sensor sólo se produce en la estrecha porción del espectro absorbida por el monóxido de carbono de la muestra. Es evidente que este dispositivo se puede adaptar al análisis de cualquier gas que absorba radiación en el infrarrojo.

16C-4. Instrumentos automatizados para el análisis cuantitativo

La Figura 16-14 muestra el esquema de un instrumento controlado por ordenador diseñado específicamente para el análisis cuantitativo en el infrarrojo. El selector de longitud de onda consta de tres filtros de cuña (página 165) montados en forma de círculo segmentado, tal como se muestra en la Figura 16-14b. El mecanismo que acciona el motor y el control potenciométrico permiten la rápida selección de la longitud de onda por ordenador, en la región entre 4.000 y 690 cm^{-1} (de $2,5$ a $14,5\text{ }\mu\text{m}$) con una exactitud de $0,4\text{ cm}^{-1}$. La fuente y el detector son semejantes a los descritos en el apartado anterior que trata los fotómetros de filtro; obsérvese que en este caso se utiliza un cortador del haz. El compartimento de muestras puede adaptarse con facilidad para el análisis de muestras sólidas, líquidas o gaseosas. El instrumento se puede programar para la medida de la absorbancia de una mezcla de varios componentes a diferentes longitudes de onda para luego calcular la concentración de cada uno de los componentes.

¹⁴ Para una descripción del proceso de la medición en el infrarrojo, véase M. S. Frant y G. LaButti, *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 1331A.

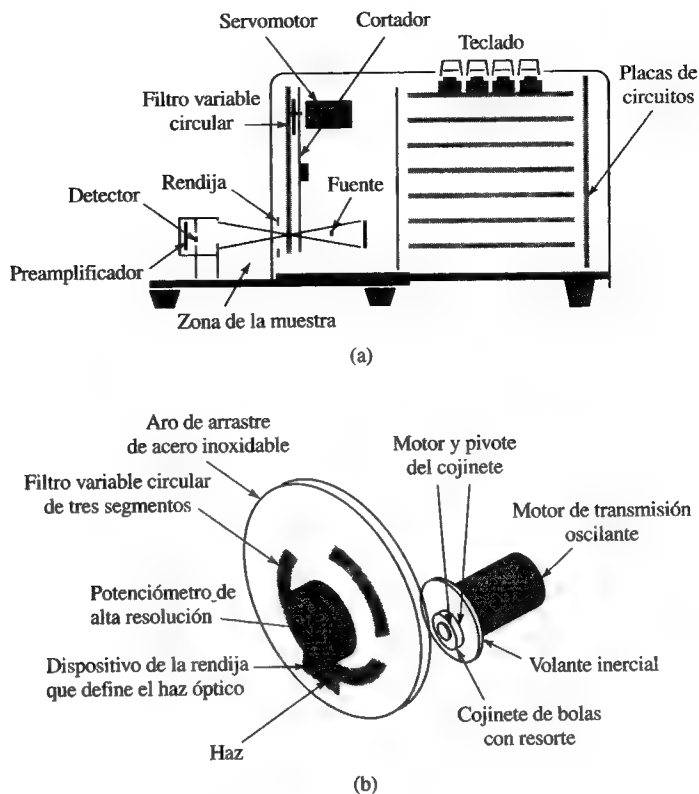
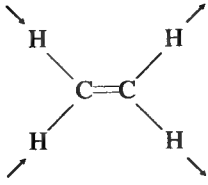
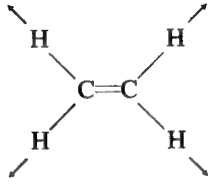
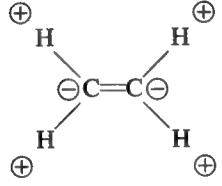
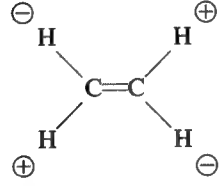


Figura 16-14. Instrumento de infrarrojo para el análisis cuantitativo. (a) Esquema del instrumento; (b) rueda con el filtro circular variable. (Cortesía de The Foxboro Company, Foxboro, MA.)

16D. CUESTIONES Y PROBLEMAS

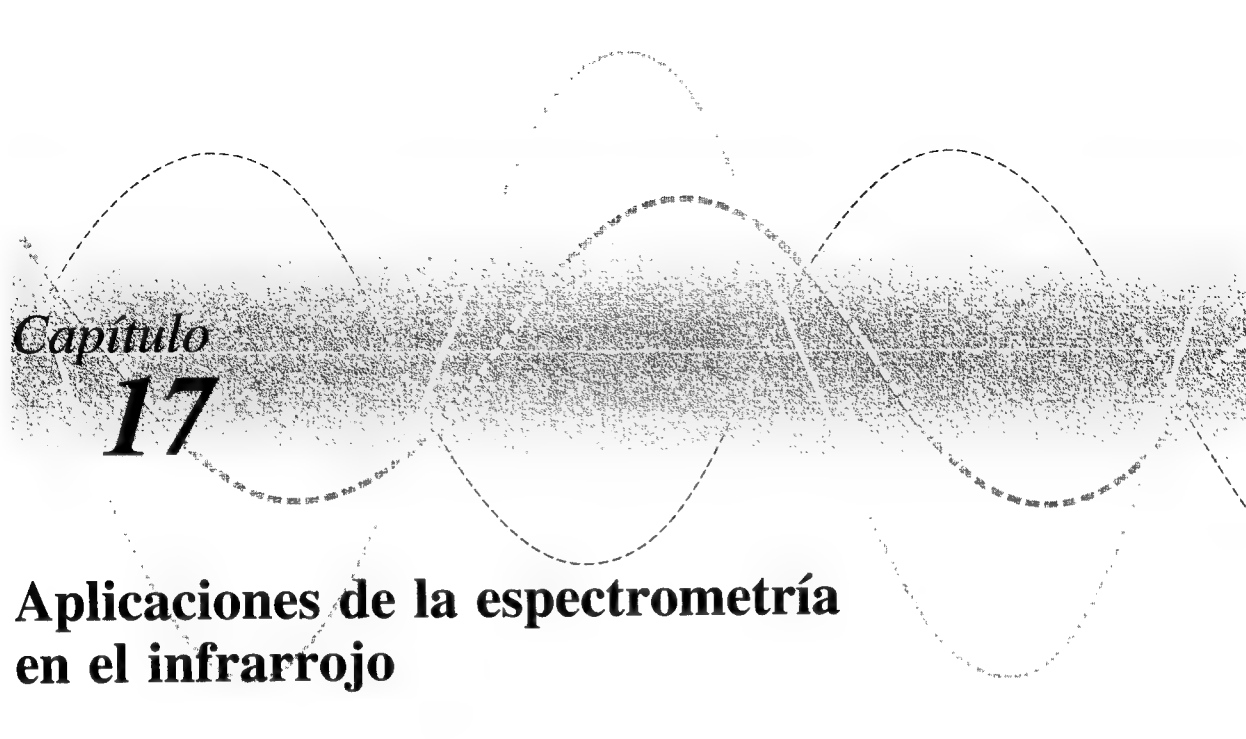
- 16-1.** El espectro infrarrojo del CO presenta un pico de absorción vibracional a 2.170 cm^{-1} .
- ¿Cuál es la constante de fuerza del enlace CO?
 - ¿Qué número de onda tendría el correspondiente pico del ^{14}CO ?
- 16-2.** El HCl gaseoso presenta un pico en el infrarrojo a 2.890 cm^{-1} debido a la vibración de tensión hidrógeno/cloro.
- Calcular la constante de fuerza del enlace.
 - Calcular el número de onda del pico de absorción para el DCl suponiendo que la constante de fuerza es la misma que la calculada en el apartado (a).
- 16-3.** Indicar si las siguientes vibraciones serán o no activas en el infrarrojo.

Molécula	Modo de vibración
(a) $\text{CH}_3\text{—CH}_3$	C—C tensión
(b) $\text{CH}_3\text{—CCl}_3$	C—C tensión
(c) SO_2	Tensión simétrica

Molécula	Modo de vibración
(d) $\text{CH}_2=\text{CH}_2$	C—H tensión: 
(e) $\text{CH}_2=\text{CH}_2$	C—H tensión: 
(f) $\text{CH}_2=\text{CH}_2$	CH_2 aleteo: 
(g) $\text{CH}_2=\text{CH}_2$	CH_2 torsión: 

- 16-4.** Calcular la frecuencia de absorción correspondiente a la vibración de tensión C—H, considerando el grupo como una molécula C—H diatómica sencilla. Comparar el valor calculado con el intervalo encontrado en los gráficos de correlación (como el mostrado en la Fig. 17-5). Repetir el cálculo para el enlace con deuterio.
- 16-5.** La longitud de onda de la vibración de tensión fundamental O—H es aproximadamente $1,4 \mu\text{m}$. ¿Cuáles son la longitud de onda y el número de onda aproximados del primer sobretono para la tensión O—H?
- 16-6.** La longitud de onda de la vibración de tensión fundamental N—H es aproximadamente $1,5 \mu\text{m}$. ¿Cuáles son la longitud de onda y el número de onda aproximados del primer sobretono para la tensión N—H?
- 16-7.** El dióxido de azufre es una molécula no lineal. ¿Cuántos modos de vibración tendrá este compuesto? ¿Cuántos picos de absorción se podrían esperar para el dióxido de azufre?
- 16-8.** ¿Cuáles son las ventajas de un espectrómetro infrarrojo de transformada de Fourier si se compara con un instrumento dispersivo?

- 16-9.** ¿Qué recorrido del espejo sería necesario en un espectrómetro de transformada de Fourier para proporcionar una resolución de (a) $0,020 \text{ cm}^{-1}$ y de (b) $2,0 \text{ cm}^{-1}$?
- 16-10.** Se ha establecido que a temperatura ambiente (25°C) la mayoría de las moléculas están en el nivel de energía vibracional fundamental ($\nu = 0$).
- (a) Emplear la ecuación de Boltzmann (Ecuación 8-1) para calcular las siguientes relaciones de población en estado excitado y en estado fundamental para el HCl $N(\nu = 1)/N(\nu = 0)$ y $N(\nu = 2)/N(\nu = 0)$. La frecuencia de vibración fundamental del HCl se produce a 2.885 cm^{-1} .
 - (b) Con los resultados del apartado (a) predecir la intensidad de las transiciones de $\nu = 1$ a 2 y de $\nu = 2$ a 3 en relación con la transición de $\nu = 0$ a 1 .
- 16-11.** Los primeros instrumentos de FTIR empleaban tres sistemas interferométricos distintos. Explicar brevemente cómo se han podido simplificar los sistemas ópticos en los instrumentos más modernos.
- 16-12.** En un determinado análisis de trazas por FTIR se recogieron dieciséis interferogramas. La relación señal/ruido asociada con un pico espectral determinado era aproximadamente de $5/1$. ¿Cuántos interferogramas se deberían realizar y promediar si se pretende obtener una relación $S/N = 50/1$?
- 16-13.** Si en un interferómetro de Michelson el espejo se mueve a una velocidad de $1,00 \text{ cm/s}$, ¿cuál será la frecuencia en el detector debida a la luz que sale de la fuente a: (a) 1.700 cm^{-1} ? (b) 1.710 cm^{-1} ? (c) 1.715 cm^{-1} ?



Capítulo 17

Aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo

La moderna espectrometría en el infrarrojo es una herramienta versátil que se aplica a la determinación cualitativa y cuantitativa de especies moleculares de todo tipo. Como se muestra en la Tabla 17-1, las aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo se dividen en tres grandes categorías relacionadas con las tres regiones espectrales del infrarrojo. La región más utilizada es, con mucha diferencia, la región del infrarrojo medio que se extiende entre aproximadamente 670 y 4.000 cm^{-1} ($2,5$ y $14,9\text{ }\mu\text{m}$). En esta región, para los análisis cualitativos y cuantitativos, se emplean los espectros de absorción, reflexión y emisión. La región del infrarrojo cercano, comprendida entre 4.000 y 14.000 cm^{-1} ($0,75$ y $2,5\text{ }\mu\text{m}$), también encuentra una considerable utilidad en la determinación cuantitativa de rutina de ciertas especies, como el agua, dióxido de carbono, azufre, hidrocarburos de bajo peso molecular, nitrógeno amínico, y muchos otros compuestos sencillos que tienen interés en agricultura y en industria. Estas determinaciones se basan, con frecuencia, en medidas de la reflectancia difusa de muestras sólidas o líquidas sin tratamiento previo o en estudios de trans-

misión por gases. La principal utilidad de la región infrarroja lejana consiste en la determinación de estructuras de especies inorgánicas y organometálicas que se basan en las medidas de absorción.

Este capítulo se centrará en los usos de la espectrometría de absorción y reflexión en el infrarrojo medio para la investigación estructural de compuestos moleculares, particularmente compuestos orgánicos y especies que tienen interés en bioquímica. Posteriormente se examinará con menos detalle alguna de las aplicaciones que aparecen en la Tabla 17-1.

17-A. ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO

La espectrometría de absorción y reflexión en el infrarrojo medio es la principal herramienta para la determinación estructural de especies orgánicas y bioquímicas¹. En este apartado se examinarán las

¹ Para un examen más detallado, véase N. B. Colthup, L. H. Daly y S. E. Wiberley, *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*, 3.^a ed. New York: Academic Press, 1990; A. L.

TABLA 17-1. Principales aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo

Regiones espectrales	Tipo de medida	Tipo de análisis	Tipo de muestras
Infrarrojo cercano	Reflectancia difusa	Cuantitativa	Materiales comerciales sólidos o líquidos
	Absorción	Cuantitativa	Mezclas gaseosas
Infrarrojo medio	Absorción	Cualitativa	Compuestos sólidos, líquidos o gaseosos puros
		Cuantitativa	Mezclas complejas de gases, líquidos o sólidos
		Cromatográfico	Mezclas complejas de gases, líquidos o sólidos
	Reflectancia	Cualitativa	Compuestos sólidos puros o líquidos
	Emisión	Cuantitativa	Muestras atmosféricas
Infrarrojo lejano	Absorción	Cualitativa	Especies inorgánicas puras u organometálicas

aplicaciones de la absorción en el infrarrojo medio. El Apartado 17B está dedicado a las medidas de reflectancia en el infrarrojo medio.

17A-1. Manipulación de la muestra

Como ya se ha visto en los primeros capítulos, los espectros moleculares ultravioleta y visible se obtienen, en la mayoría de los casos, a partir de disoluciones diluidas del analito. Para conseguir que las medidas de absorbancia se encuentren dentro del intervalo óptimo, se ajusta de forma adecuada la concentración, o el espesor de la cubeta. Desafortunadamente, esta práctica no es aplicable, por lo general, en la espectroscopia en el infrarrojo, debido a que no existen buenos disolventes que sean transparentes en toda la región espectral de interés. Como consecuencia, la manipulación de la muestra es, con frecuencia, la parte del análisis espectrométrico en el infrarrojo más difícil y que requiere más tiempo². En este apartado se da una idea general de las técnicas comunes de preparación de la muestra para las medidas de absorción en el infrarrojo.

Gases

El espectro de un líquido de bajo punto de ebullición o de un gas se puede obtener permitiendo a

la muestra que se expanda en una cubeta cilíndrica en la que se ha hecho el vacío, equipada con las ventanas adecuadas. Para este fin se dispone de una variedad de cubetas cilíndricas con caminos ópticos que oscilan entre pocos centímetros y 10 o más metros. Los caminos ópticos más largos se obtienen en cubetas compactas provistas de superficies internas reflectantes, de modo que el haz pasa numerosas veces por la muestra antes de salir de la cubeta.

Disoluciones

Siempre que sea posible, es conveniente obtener el espectro de infrarrojo de disoluciones preparadas de forma que contengan una cantidad conocida de la muestra, como se hace normalmente en espectrometría ultravioleta/visible. Sin embargo, esta técnica tiene ciertas limitaciones en cuanto a sus aplicaciones, por la disponibilidad de disolventes que sean transparentes en las regiones del infrarrojo importantes.

Disolventes. En la Figura 17-1 se enumeran los disolventes más comunes utilizados en los estudios espectroscópicos en el infrarrojo de compuestos orgánicos. Es evidente que no existe un solo disolvente que sea transparente en toda la región del infrarrojo medio.

El agua y los alcoholes rara vez se utilizan, no sólo porque absorben intensamente, sino también porque atacan a los haluros de metales alcalinos, que son los materiales más habituales utilizados en las ventanas de las cubetas. Por estas razones también es necesario poner cuidado en secar los disolventes indicados en la Figura 17-1 antes de utilizarlos.

Smith, *Applied Infrared Spectroscopy*, New York: Wiley, 1979; R. M. Silverstein, G. C. Bassler y T. C. Morrill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5.^a ed., Capítulo 3. New York: Wiley, 1991.

² Véase T. J. Porro y S. C. Pattacini, *Spectroscopy*, 1993, 8(7), 40; *Ibid.*, 8(8), 39; A. L. Smith, *Applied Infrared Spectroscopy*, Capítulo 4. New York: Wiley, 1979; *Practical Sampling Techniques for Infrared Analysis*, P. B. Coleman, Ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1993.

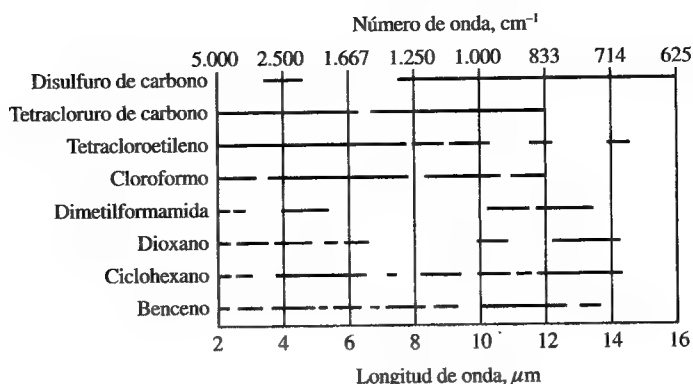


Figura 17-1. Disolventes utilizables en la región del infrarrojo. Las líneas horizontales indican las regiones útiles.

Cubetas. Debido a la tendencia de los disolventes a absorber, las cubetas para el infrarrojo suelen ser mucho más estrechas (0,1 a 1 mm) que las empleadas en las regiones ultravioleta y visible. Los caminos ópticos en el infrarrojo requieren, por lo común, concentraciones de muestra de 0,1 a 10 por 100. Con frecuencia, las cubetas son desmontables, con espaciadores de Teflón que permiten variar la longitud del camino óptico (véase Fig. 17-2). Las cubetas de camino óptico fijo se pueden llenar o vaciar con una jeringa hipodérmica.

Las ventanas de cloruro de sodio son las más utilizadas y aún teniendo cuidado, finalmente se deslustran debido a la absorción de humedad. Si se limpian con un polvo de pulimentación vuelven a su condición original.

La Figura 17-3 muestra cómo se puede determinar el espesor b de las cubetas estrechas empleadas en infrarrojo. La figura superior es el registro de la señal obtenida al colocar una cubeta vacía en la trayectoria del haz de la muestra. En este caso el haz de referencia pasa al monocromador sin encontrar ningún impedimento. El modelo de máximos y mínimos regulares constituye un frente de interferencias. Los máximos tienen lugar cuando la radiación que se refleja en las caras internas de la cubeta ha viajado una distancia igual a un múltiplo entero N de longitudes de onda de la radiación que se transmite sin reflexión. Siempre que la longitud de onda sea igual a $2b/N$ tendrá lugar una interferencia constructiva. Esto es,

$$\frac{2b}{N} = \lambda \quad (17-1)$$

Como se indica en la Figura 17-3b, se cuenta el número de picos de interferencia ΔN , que aparecen entre dos longitudes de onda determinadas λ_1 y λ_2 , y se introduce en la ecuación

$$\begin{aligned} \Delta N &= \frac{2b}{\lambda_1} - \frac{2b}{\lambda_2} \\ &= 2b\bar{\nu}_1 - 2b\bar{\nu}_2 \end{aligned}$$

o

$$b = \frac{\Delta N}{2(\bar{\nu}_1 - \bar{\nu}_2)} \quad (17-2)$$

Se debe advertir que el frente de interferencia no se suelen ver cuando la cubeta se llena con líquido, debido a que el índice de refracción de la mayoría de los líquidos es próximo al del material de la ventana; de este modo, se reduce la reflexión (Ecuación 6-15, página 133). Por otra parte, en la Figura 16-1 (página 411) se pueden observar las interferencias que aparecen en la región comprendida entre 2.800 y 2.000 cm^{-1} . En este caso, la muestra es una hoja de poliestireno, que tiene un índice de refracción considerablemente distinto al del aire; como consecuencia, en las dos interfases de la hoja tiene lugar una reflexión significativa. La Ecuación 17-2 se utiliza, a menudo, para calcular el espesor de películas de polímeros delgadas.

Líquidos

Cuando la cantidad de muestra es pequeña o cuando no se dispone del disolvente apropiado, es habitual obtener los espectros del líquido puro. En este

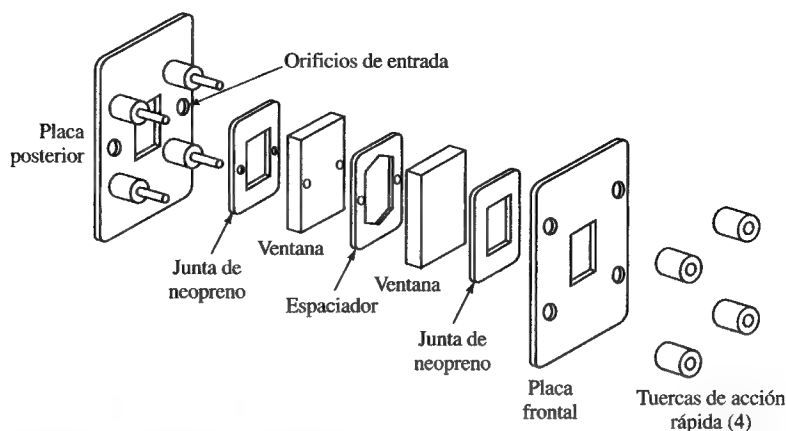


Figura 17-2. Vista aumentada de una cubeta de infrarrojo desmontable para muestras líquidas. Se dispone de espaciadores de teflón con grosores de 0,015 a 1 mm. (Cortesía de Perkin-Elmer, Norwalk, CT.)

caso, sólo una película muy delgada tiene un camino óptico lo suficientemente corto como para producir espectros satisfactorios. Por lo común, una gota del líquido puro se presiona entre dos placas de sal gema para obtener una placa con un espesor

de 0,01 mm o menor. Las dos placas, que se mantienen unidas por capilaridad, se colocan en la trayectoria del haz. Sin duda, con esta técnica no se obtienen datos de transmitancia particularmente reproducibles, pero los espectros obtenidos son, por lo general, satisfactorios para las investigaciones cualitativas. Las muestras de líquidos puros pueden contener el agua suficiente para deslustrar las placas de sal y se hace necesario el pulido periódico de las mismas.

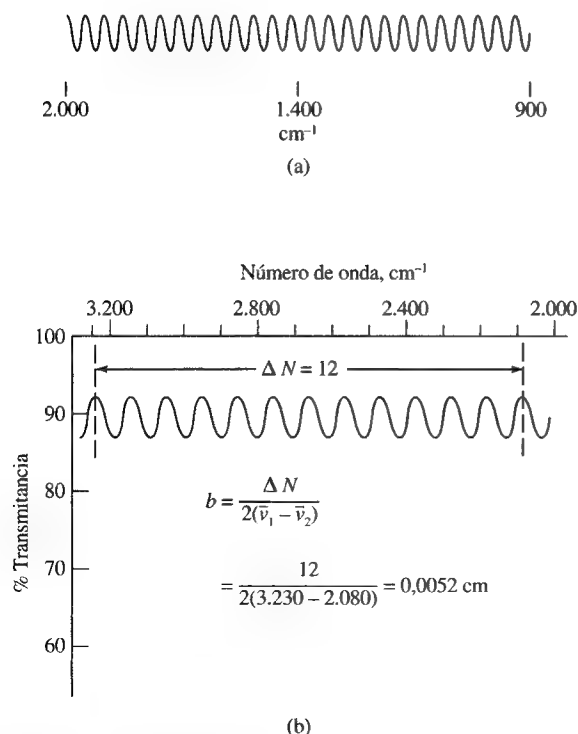


Figura 17-3. (a) Copia del registro real con la cubeta vacía en el haz de muestra. (b) Ilustración del cálculo del camino óptico b .

Sólidos

La mayoría de los compuestos orgánicos presentan numerosos picos de absorción en la región del infrarrojo medio, y encontrar un disolvente que no de lugar a solapamientos de picos es, con frecuencia imposible. Como consecuencia, a menudo, se obtienen los espectros de dispersiones del sólido en una matriz líquida o sólida. Generalmente, en estas técnicas, la muestra sólida se debe pulverizar hasta que el tamaño de sus partículas sea menor que la longitud de onda de la radiación para evitar los efectos de dispersión de la radiación.

Pastillas. Una de las técnicas más popular de manipulación de las muestras sólidas es la formación de pastillas de KBr (también se han utilizado otros haluros de metales alcalinos). Las sales de haluros tienen la propiedad de flujo en frío por lo cual cuando se presiona suficientemente este material finamente pulverizado presenta propiedades transparentes o translúcidas como el vidrio. Al usar esta técnica, se mezclan a fondo un miligramo o menos

de la muestra, finamente pulverizada, con aproximadamente 100 mg de polvo de bromuro de potasio desecado. La mezcla se puede realizar con un mortero y su pistilo, o mejor, en un pequeño molino de bolas. Posteriormente se presiona la mezcla en un troquel especial entre 700 y 1.000 kg/cm² hasta obtener un disco transparente. Se obtienen mejores resultados si el disco se prepara en vacío para eliminar el aire ocluido. A continuación, el disco se coloca en la trayectoria del haz del instrumento para su examen espectroscópico. Los espectros resultantes presentan, a menudo, bandas a 3.450 y 1.640 cm⁻¹ (2,9 y 6,1 μ m) debidas a la humedad absorbida.

Para muchos compuestos las pastillas de KBr producen espectros excelentes que aparecen en las colecciones de espectros. Siendo iónico, el KBr transmite a lo largo de la mayor parte de la región del infrarrojo hasta una frecuencia de aproximadamente 400 cm⁻¹. El yoduro de cesio absorbe por debajo de 200 cm⁻¹ y a veces se utiliza por su mayor transparencia a bajas frecuencias.

Suspensiones. Cuando los sólidos no son solubles en un disolvente transparente en la región del infrarrojo ni es conveniente prepararlos en forma de pastillas de KBr sus espectros de infrarrojo se suelen obtener por dispersión del analito en una *suspensión* de un aceite mineral o un hidrocarburo fluorado. Las suspensiones se preparan moliendo de 2 a 5 mg de la muestra finamente pulverizada (tamaño de partícula <2 μ m) en presencia de una o dos gotas de un aceite hidrocarbonado pesado (Nujol). Si es probable que interfieran las bandas del hidrocarburo, se puede sustituir por Fluorolube, un polímero halogenado. En cualquiera de los casos, la suspensión resultante se examina luego como una delgada película entre placas planas de sal.

§ **Otros métodos para sólidos.** También se puede observar el comportamiento de los sólidos en el infrarrojo por técnicas de reflectancia y por el método fotoacústico. Estos espectros son, con frecuencia, similares a los espectros de absorción y proporcionan la misma clase de información. Estas técnicas se discuten en los Apartados 17B y 17C.

17A-2. Análisis cualitativo

El uso generalizado por los químicos de la espectroscopia en el infrarrojo medio para la identifica-

ción de compuestos orgánicos se inició a finales de los años cincuenta, con la aparición en el mercado de espectrofotómetros dispersivos de doble haz con registro, baratos y de fácil manejo que producían espectros en el intervalo de 5.000 a 670 cm⁻¹ (2 a 15 μ m). La aparición de este tipo de instrumentos (así como de los espectrómetros de resonancia magnética nuclear y de masas) revolucionó la forma con la que los químicos identificaban las especies orgánicas, inorgánicas y biológicas. De repente, el tiempo necesario para realizar una determinación estructural se redujo en un factor de diez, de cien, e incluso de mil.

La Figura 17-4 muestra cuatro espectros característicos obtenidos con un instrumento dispersivo de doble haz de bajo precio. La identificación de un compuesto orgánico a partir de un espectro de este tipo es un proceso que consta de dos etapas. La primera etapa implica la determinación de los grupos funcionales que parece más probable que estén presentes, examinando la *región de frecuencias de grupo*, que abarca la radiación comprendida desde 3.600 cm⁻¹ a 1.200 cm⁻¹ aproximadamente (véase la Figura 17-4). La segunda etapa consiste en una comparación detallada del espectro del compuesto desconocido con los espectros de compuestos puros que contienen todos los grupos funcionales encontrados en la primera etapa. En este caso es particularmente útil la región de la *huella dactilar*, comprendida entre 1.200 cm⁻¹ y 600 cm⁻¹ (Fig. 17-4), debido a que pequeñas diferencias en la estructura y la constitución de una molécula provocan cambios significativos en el aspecto y la distribución de los picos en esta región. Como consecuencia, un gran parecido en la región de huella dactilar (así como en las otras) de los espectros de dos compuestos constituye casi una evidencia de su identidad.

Frecuencias de grupo

Se ha explicado que la frecuencia aproximada (o el número de onda) a la que un grupo funcional, como C=O, C=C, C—H, C≡C, o O—H, absorbe radiación en el infrarrojo, se puede calcular a partir de las masas de los átomos y de la constante de fuerza del enlace entre ellos (Ecuaciones 16-13 y 16-14). Estas frecuencias, denominadas *frecuencias de grupo*, rara vez permanecen invariables, debido a las interacciones con otras vibraciones asociadas a uno o a los dos átomos que forman el grupo. Por otra parte, los efectos de dichas interacciones suelen ser pequeños; como consecuencia de

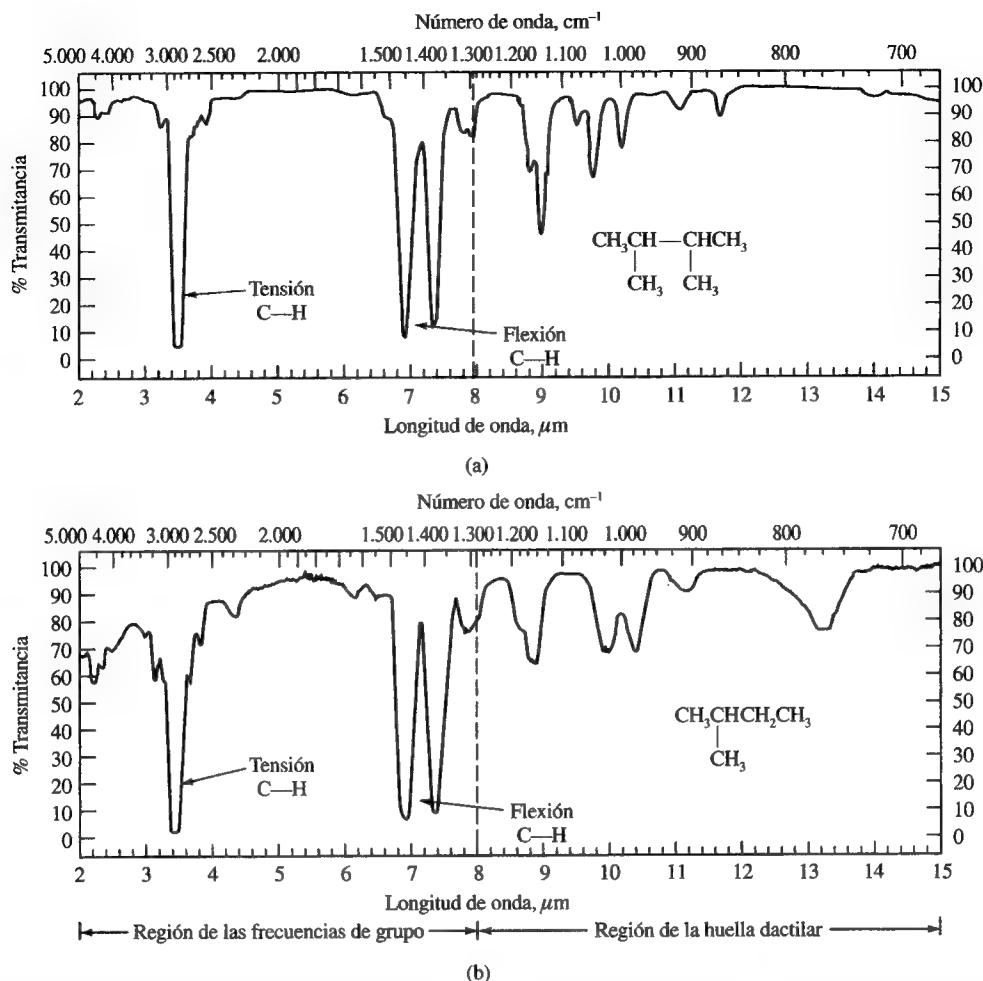


Figura 17-4. Regiones de las frecuencias de grupo y de la «huella dactilar» del espectro infrarrojo medio. (Con autorización de R. M. Roberts, J. C. Gilbert, L. B. Rodewald y A. S. Wingrove, *Modern Experimental Organic Chemistry*, 4.^a ed. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1985.)

ello, se puede asignar un intervalo de frecuencias dentro del cual es muy probable encontrar el pico de absorción para un grupo funcional determinado. La Tabla 17-2 enumera las frecuencias de grupo para algunos de los grupos funcionales más comunes. Una presentación más detallada de las frecuencias de grupo se da en la *tabla de correlación* que se muestra en la Figura 17-5³. Obsérvese que aunque la mayoría de las frecuencias de grupo se encuentran en el intervalo de 3.600 cm^{-1} a 1.250 cm^{-1} , algunas se encuentran en la región de la huella dactilar. Estas

incluyen la vibración de tensión del grupo C—O—C a aproximadamente 1.200 cm^{-1} y la vibración de tensión del enlace C—Cl entre 700 y 800 cm^{-1} .

En los cuatro espectros de la Figura 17-4 se identifican varias frecuencias de grupo. Los cuatro espectros contienen un pico en el intervalo de 2.900 cm^{-1} a 3.000 cm^{-1} , que corresponde a una vibración de tensión del enlace C—H , y generalmente indica la presencia de uno o más grupos alcanos (véase la Tabla 17-2). Los dos picos alrededor de 1.375 cm^{-1} y 1.450 cm^{-1} son también frecuencias de grupo características de los grupos C—H , y resultan de las vibraciones de flexión en la molécula. En el espectro 17-4c se observa la frecuencia de grupo para una vibración de tensión del

³ Otras tablas de correlación se pueden encontrar en R. M. Silverstein, G. C. Bassler y T. C. Morrill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5.^a ed., págs. 158-163. New York: Wiley, 1991.

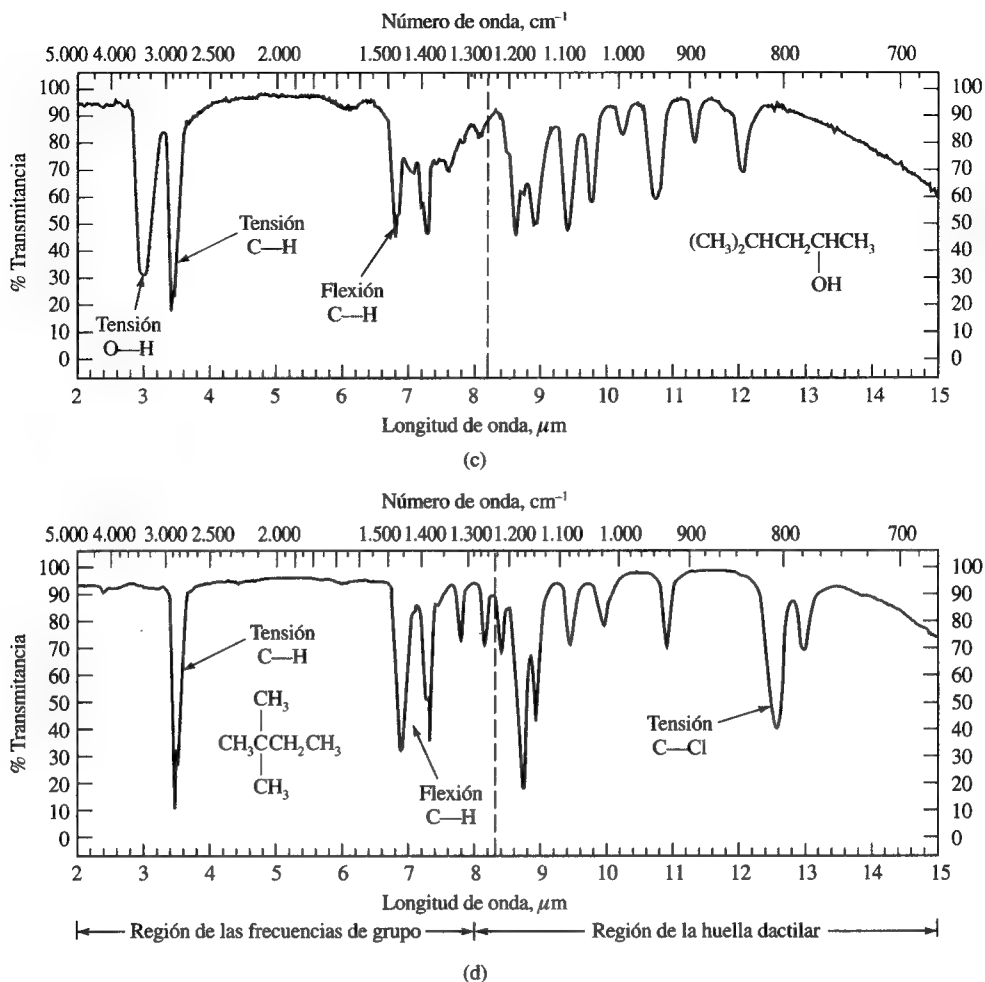


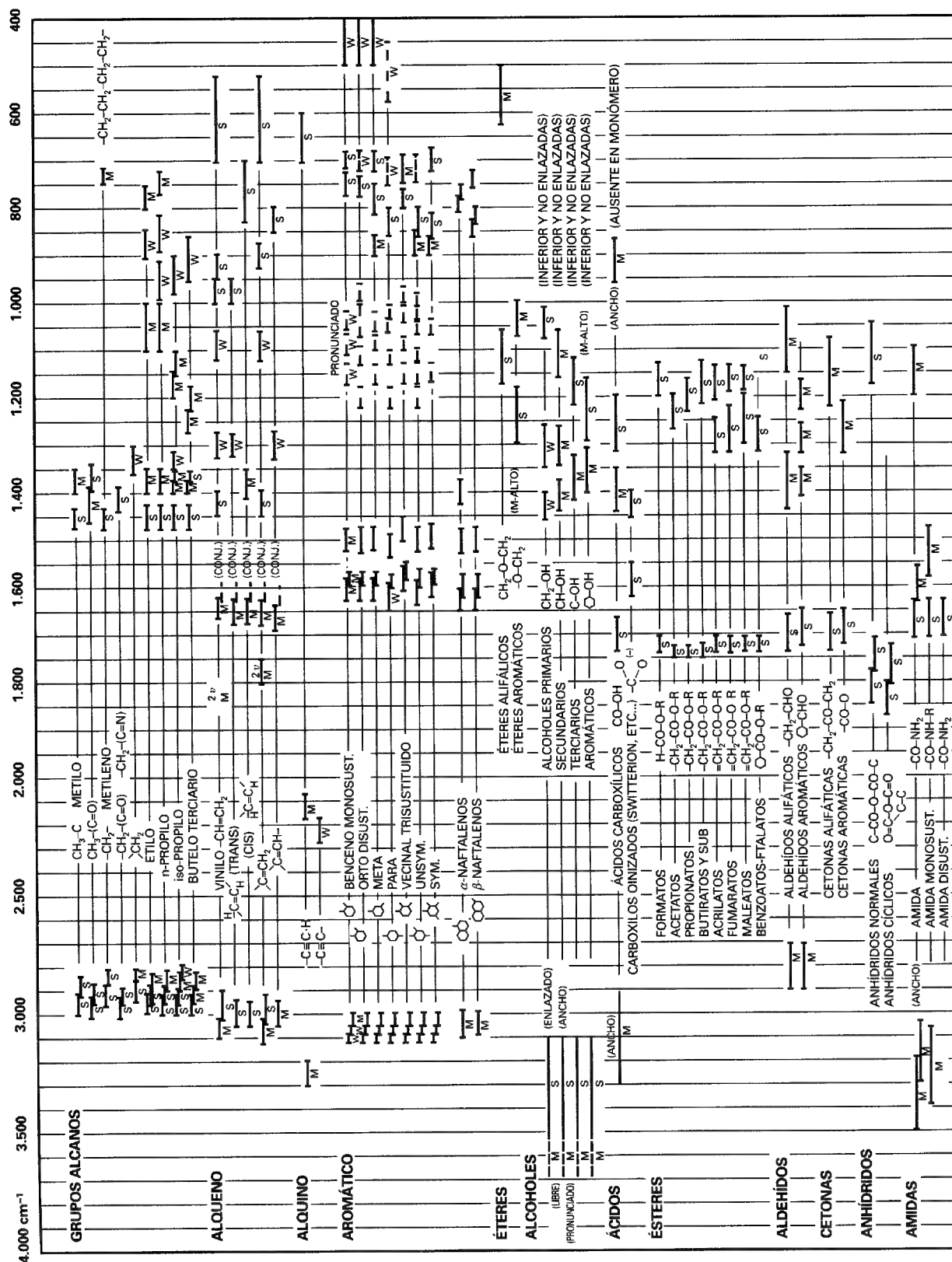
Figura 17-4. Continuación.

enlace O—H alrededor de 3.200 cm^{-1} así como las frecuencias de grupo de los alcanos (estos picos también están presentes en el espectro del *n*-hexanal que se muestra en la Fig. 16-11). Por último, la frecuencia de grupo característica para la vibración de tensión del enlace C—Cl se muestra en el espectro 17-4d a alrededor de 800 cm^{-1} .

Las frecuencias de grupo y las tablas de correlación permiten hacer estimaciones inteligentes sobre qué grupos funcionales es probable que estén presentes o ausentes en una molécula. Por lo general, es imposible identificar sin ambigüedad el origen de todos los picos presentes en un determinado espectro, o establecer la identidad exacta de una molécula. En cambio, las frecuencias de grupo y las tablas de correlación sirven como punto de partida para el proceso de identificación.

Región de la «huella dactilar»

Pequeñas diferencias en la estructura y la constitución de las moléculas dan lugar a cambios significativos en la distribución de los picos de absorción en esta región del espectro que se extiende de aproximadamente 1.200 a 700 cm^{-1} (8 a $14\text{ }\mu\text{m}$). En consecuencia, un estrecho parecido entre dos espectros en esta región (y en las otras) constituye una fuerte evidencia de la identidad de los compuestos que producen los espectros. La mayoría de los enlaces sencillos originan bandas de absorción a estas frecuencias; como sus energías son aproximadamente iguales, se producen interacciones fuertes entre los enlaces vecinos. Las bandas de absorción son, por tanto, la combinación de estas distintas interacciones y dependen de la estructura del esque-



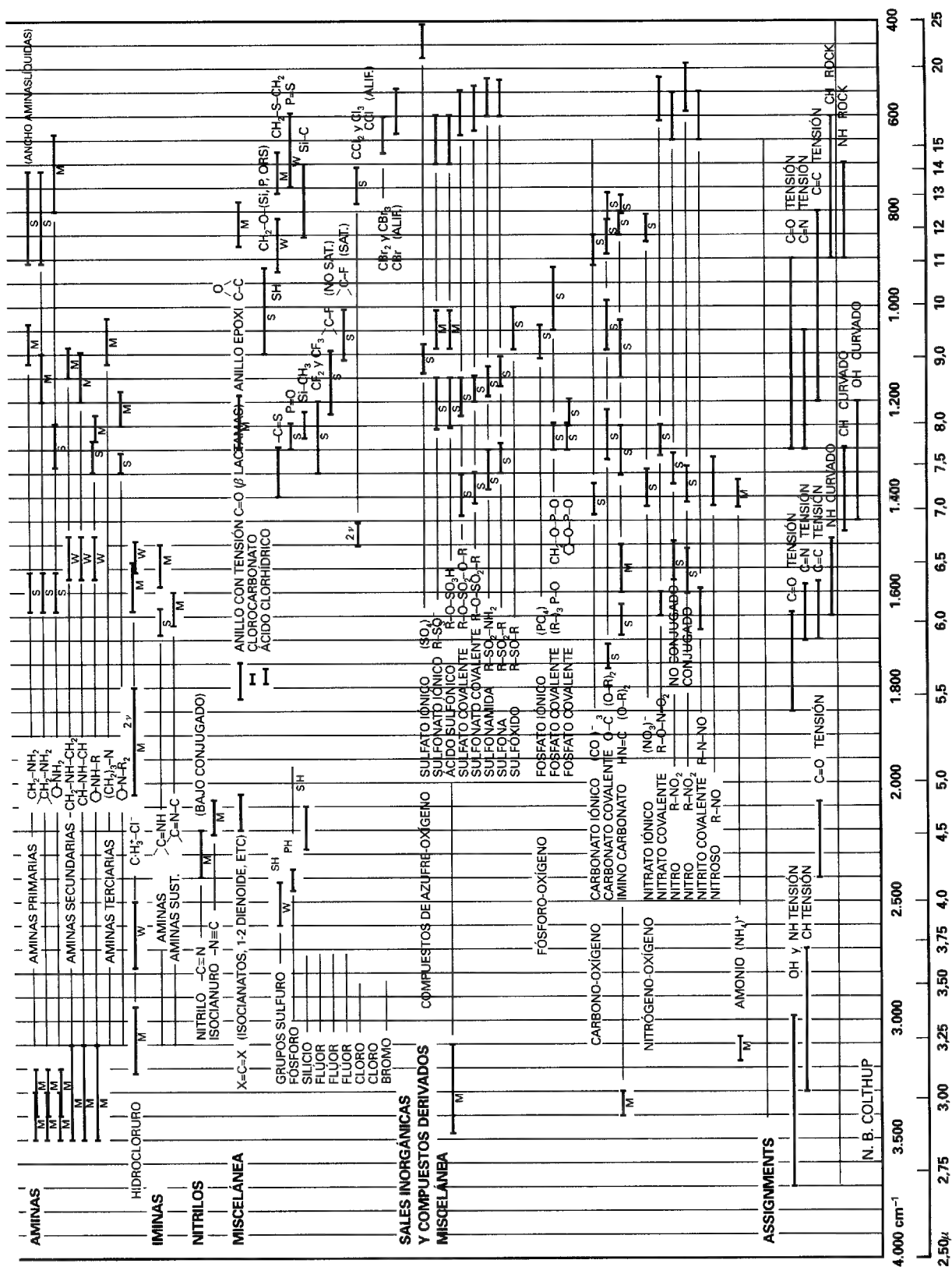
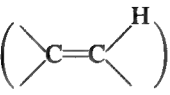


Figura 17-5. Carta de correlación. (Con autorización de N. B. Colthup, J. Optical Soc. Am., 1950, 40, 397.)

TABLA 17-2. Tabla abreviada de las frecuencias de grupo de grupos orgánicos

Enlace	Tipo de compuesto	Intervalo de frecuencias, cm^{-1}	Intensidad
C—H	Alcanos	2.850-2.970 1.340-1.470	Fuerte Fuerte
C—H	Alquenos 	3.010-3.095 675-995	Media Fuerte
C—H	Alquinos ($-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$)	330	Fuerte
C—H	Anillos aromáticos	3.010-3.100 690-900	Media Fuerte
O—H	Alcoholes y fenoles (monómeros)	3.590-3.650	Variable
	Alcoholes y fenoles (unidos por puentes de hidrógeno)	3.200-3.600	Variable, a veces ancha
	Ácidos carboxílicos (monómeros)	3.500-3.650	Media
	Ácidos carboxílicos (unidos por puentes de hidrógeno)	2.500-2.700	Ancha
N—H	Aminas, amidas	3.300-3.500	Media
C=C	Alquenos	1.610-1.680	Variable
C=C	Anillos aromáticos	1.500-1.600	Variable
C≡C	Alquinos	2.100-2.260	Variable
C—N	Aminas, amidas	1.180-1.360	Fuerte
C≡N	Nitrilos	2.210-2.280	Fuerte
C—O	Alcoholes, éteres, ácidos carboxílicos, ésteres	1.050-1.300	Fuerte
C=O	Aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres	1.690-1.760	Fuerte
NO ₂	Nitroderivados	1.500-1.570 1.300-1.370	Fuerte Fuerte

leto completo de la molécula. Debido a su complejidad, rara vez es posible la interpretación exacta de los espectros en esta región; por otra parte, esta complejidad es la que conduce a la singularidad y por consiguiente a la utilidad de la región para fines de identificación.

Las Figuras 17-4a y 17-4b ilustran el carácter único de los espectros de infrarrojo, particularmente en la región de la huella dactilar. Las dos moléculas difieren sólo en un grupo metilo; a pesar de todo, el aspecto de los espectros difieren notablemente en la región de la huella dactilar.

Como se muestra en la Figura 17-5, algunos grupos inorgánicos como sulfato, fosfato, nitrato y carbonato absorben en la región de la huella dactilar ($<1.200\text{ cm}^{-1}$ o $>8,3\text{ }\mu\text{m}$).

Limitaciones del uso de las tablas de correlación

El establecimiento inequívoco de la identidad o estructura de un compuesto raras veces es posible con la sola ayuda de las tablas de correlación. Con frecuencia surgen incertidumbres como consecuencia de la superposición de frecuencias de gru-

po, de las variaciones espectrales dependientes del estado físico de la muestra (es decir, si es una disolución, una suspensión, una pastilla, etc.), y de las limitaciones de los instrumentos.

Al emplear las frecuencias de grupo, es esencial que se considere e interrelacione el espectro completo, en vez de una pequeña parte. La interpretación basada en una parte del espectro se debe confirmar o rechazar mediante el estudio en otras regiones.

En resumen, las tablas de correlación sólo sirven como guía para un posterior estudio más detenido. Algunas excelentes monografías describen con detalle las características de absorción de los grupos funcionales⁴. Un estudio de estas características, así como de las propiedades físicas de la muestra, pueden permitir la identificación inequívoca. La espectroscopia en el infrarrojo, cuando se utiliza en combinación con otros métodos como espectrometría de masas, resonancia magnética nuclear, y análisis elemental, hace posible, generalmente, la identificación de una especie.

Colecciones de espectros

Como ya se ha indicado, las tablas de correlación pocas veces son suficiente para la identificación positiva de un compuesto orgánico a partir de su espectro infrarrojo. Sin embargo, existen diversos catálogos de espectros de infrarrojo que ayudan en la identificación cualitativa permitiendo la comparación de los espectros con los de un gran número de compuestos puros. La búsqueda manual en grandes catálogos de espectros es lenta y tediosa. Por este motivo, en los últimos años se han empezado a utilizar extensamente los sistemas de búsqueda por ordenador.

Sistemas de búsqueda por ordenador⁵

En la práctica, todos los fabricantes de instrumentos de infrarrojo ofrecen sistemas de búsqueda por ordenador para ayudar al químico en la identifica-

ción de los compuestos a partir de los datos espectrales de infrarrojo almacenados. La posición y la magnitud relativa de los picos en el espectro del analito se determinan y almacenan en la memoria para dar un perfil de picos, que luego se compara con los perfiles de los compuestos puros almacenados en discos magnéticos de alta densidad o discos láser. A continuación, el ordenador compara los perfiles e imprime una lista de compuestos que tienen espectros similares a los del analito. Por lo general, el espectro del analito y el del compuesto probable se muestran simultáneamente en la pantalla del ordenador para su comparación (véase la Figura 17-6). Los bancos de memoria de estos instrumentos son capaces de almacenar perfiles para cientos de miles de compuestos puros.

En 1980, ya se podía disponer de paquetes de software de la Sadtler Standard Infrared Collection y de la Sadtler Commercial Infrared Collection. En la actualidad estas colecciones contienen más de 130.000 espectros. Se incluyen 9.200 espectros en fase gaseosa, 59.000 espectros en fase condensada de compuestos puros, y 53.000 espectros de productos comerciales como monómeros, polímeros, tensioactivos, adhesivos, productos inorgánicos, plastificantes, productos farmacéuticos, drogas de abuso y muchos otros. Algunos fabricantes de instrumentos de transformada de Fourier han incorporado estos paquetes informáticos en los ordenadores de sus instrumentos, y así disponen instantáneamente de colecciones de espectros de infrarrojo de más de 100.000 compuestos.

El algoritmo de Sadtler constituye un sistema de búsqueda en el que el espectro del compuesto desconocido se codifica de acuerdo con la ubicación de su pico de absorción más elevada; luego, cada banda intensa adicional ($%T < 60\%$) se codifica por su situación en 10 regiones de 200 cm^{-1} de ancho desde 4.000 a 2.000 cm^{-1} . Por último, las bandas intensas se codifican de una forma similar en 17 regiones de 100 cm^{-1} de ancho desde 2.100 a 400 cm^{-1} . En la colección, los compuestos se codifican de la misma forma⁶. Los datos se organizan por la posición de la banda más intensa, en cualquier identificación de la muestra sólo se consideran aquellos compuestos que tienen esta misma banda como la más intensa. Este procedimiento es rápido y da como resultado una lista de compuestos probables en un período muy corto. Por ejemplo,

⁴ N. B. Colthup, L. N. Daly y S. E. Wilberley, *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*, 3.^a ed. New York: Academic Press, 1990; H. A. Szymanski, *Theory and Practice of Infrared Spectroscopy*. New York: Plenum Press, 1964. R. M. Silverstein, G. C. Bassler y T. C. Morrill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5.^a ed., Capítulo 3. New York: Wiley, 1991.

⁵ Véase W. O. George y H. Willis, *Computer Methods in UV, Visible, and IR Spectroscopy*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1990; W. A. Warr, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 1045A, 1087A; G. W. Small, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 535A.

⁶ Para una descripción más completa de este sistema, véase R. H. Shaps y J. F. Sprouse, *Ind. Res. and Dev.*, **1981**, 23, 168.

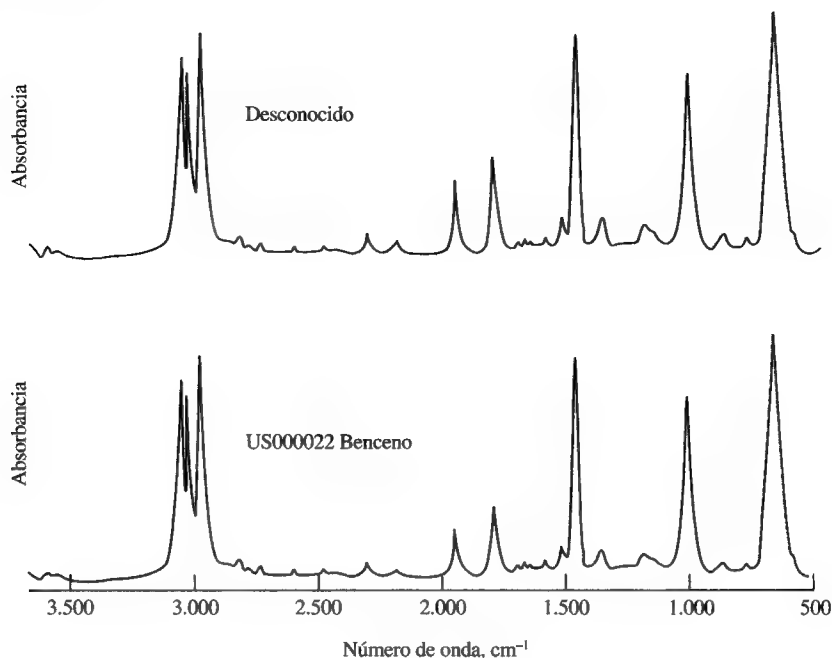


Figura 17-6. Representación de un espectro desconocido y del más parecido después de una búsqueda por ordenador. (Cortesía de Sadtler Research Laboratories, Bio-Rad Division, Philadelphia, PA.)

para buscar por este procedimiento en una colección básica de 25.000 compuestos se necesitan aproximadamente 40 s.

17A-3. Aplicaciones cuantitativas

Los métodos cuantitativos de absorción en el infrarrojo difieren algo de los métodos espectroscópicos moleculares de ultravioleta/visible debido a la mayor complejidad de los espectros, a la estrechez de las bandas de absorción y a las limitaciones instrumentales de los instrumentos de infrarrojo. Los datos cuantitativos que se obtienen con los instrumentos de infrarrojo dispersivos son, por lo general, de menor calidad que los que se obtienen con los espectrofotómetros de ultravioleta/visible. La precisión y exactitud de las medidas con los instrumentos de transformada de Fourier son claramente mejores que con los instrumentos dispersivos. Sin embargo, para obtener resultados de buena calidad es esencial prestar una atención meticulosa a los detalles⁷.

Desviaciones de la ley de Beer

Con la radiación infrarroja, debido a que las bandas de absorción son relativamente estrechas, las desviaciones instrumentales de la ley de Beer son más comunes que con la radiación ultravioleta y visible. Además, la baja intensidad de las fuentes y las bajas sensibilidades de los detectores en la región del infrarrojo requieren el uso de anchuras de rendija del monocromador relativamente grandes; por ello, las anchuras de banda que se emplean son, a menudo, del mismo orden de magnitud que la anchura de los picos de absorción. Como ya se ha señalado (Apartado 13B-2), esta combinación de circunstancias conduce por lo general a una relación no lineal entre la absorbancia y la concentración. Por consiguiente, para el trabajo cuantitativo se requieren curvas de calibración determinadas empíricamente.

Medida de la absorbancia

En las regiones ultravioleta y visible se suelen emplear cubetas contrastadas para el disolvente y para

⁷ Para una discusión del análisis cuantitativo con instrumentos de transformada de Fourier véase P. R. Griffiths y J. A. deHasech, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, Capítulo 10.

New York: Wiley, 1986; T. Hirschfeld, en *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, J. Ferraro y L. Basile, Eds., Vol. 2, págs. 193-239. New York: Academic Press, 1979.

la disolución, y así, las medidas de absorbancia se obtienen de la relación

$$A = \log \frac{P_{\text{disolvente}}}{P_{\text{disolución}}}$$

La utilización del disolvente, en una cubeta contrastada, como absorbente de referencia, tiene la ventaja de anular en gran parte los efectos de la pérdida de radiación por reflexión en las distintas interfases, por la dispersión y la absorción del disolvente, y por la absorción en las ventanas del recipiente. Esta técnica rara vez resulta adecuada para las medidas en la región infrarroja, debido a la dificultad de obtener cubetas cuyas características de transmisión sean idénticas. La mayoría de las cubetas para el infrarrojo tienen caminos ópticos muy cortos que son difíciles de reproducir exactamente. Además, las ventanas de las cubetas son atacadas fácilmente por los contaminantes de la atmósfera y los disolventes; de modo que sus características de transmisión cambian continuamente con el uso. Por estas razones, al trabajar en el infrarrojo, a menudo se prescinde totalmente del absorbente de referencia, y la intensidad del haz que atraviesa la muestra se compara con la de un haz sin obstáculos. En ambos casos, la transmitancia resultante es, por lo general, menor del 100 por 100, incluso en las regiones del espectro donde la muestra no absorbe (véase Fig. 17-4).

Para el trabajo cuantitativo, es necesario corregir los efectos de la radiación dispersada y absorbida por el disolvente y la cubeta. Se utilizan dos métodos. En el procedimiento llamado *cubeta dentro/cubeta fuera* se obtienen sucesivamente los espectros del disolvente puro y de la disolución del analito con respecto al haz de referencia sin obstáculos. Se utiliza la misma cubeta para ambas disoluciones. Se determina, entonces, la transmitancia de cada disolución respecto a la del haz de referencia, en un máximo de absorción del analito. Estas transmitancias se pueden escribir como

$$T_0 = P_0/P_r$$

y

$$T_s = P/P_r$$

donde P_r es la potencia del haz sin obstáculos y T_0 y T_s son las transmitancias del disolvente y de la disolución del analito respectivamente, respecto a

esta referencia. Si P_r permanece constante durante las dos medidas, entonces puede obtenerse la transmitancia de la muestra frente al disolvente dividiendo ambas ecuaciones. Es decir,

$$T = T_s/T_0 = P/P_0$$

Otra forma posible de obtener P_0 y T es el método de la *línea de base*, en el cual se supone que la transmitancia del disolvente es constante, o al menos cambia linealmente entre los puntos de mínima absorción que limitan al pico de absorción. Esta técnica se muestra en la Figura 17-7.

Aplicaciones características

Con la excepción de las moléculas homonucleares, todas las especies moleculares orgánicas e inorgánicas absorben en la región del infrarrojo; de esta forma, la espectrofotometría en el infrarrojo ofrece la posibilidad de determinar un número extraordinariamente grande de sustancias. Además, la singularidad del espectro infrarrojo conduce a un grado de especificidad que es igualado o superado por relativamente pocos métodos analíticos. Esta especificidad ha encontrado una particular aplicación en el análisis de mezclas de compuestos orgánicos estrechamente relacionados. A continuación se muestran dos ejemplos que ilustran estas aplicaciones.

Análisis de una mezcla de hidrocarburos aromáticos. Una aplicación característica de la espectroscopia en el infrarrojo cuantitativa es la resolución de los isómeros C_8H_{10} , en una mezcla que incluye *o*-xileno, *m*-xileno, *p*-xileno y etilbenceno. En la Figura 17-8 se muestran los espectros de absorción en el infrarrojo de los componentes individuales, disueltos en ciclohexano, en el intervalo de

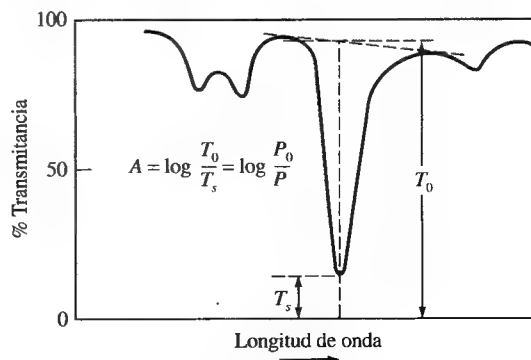


Figura 17-7. Método de la línea base para la determinación de la absorbancia.

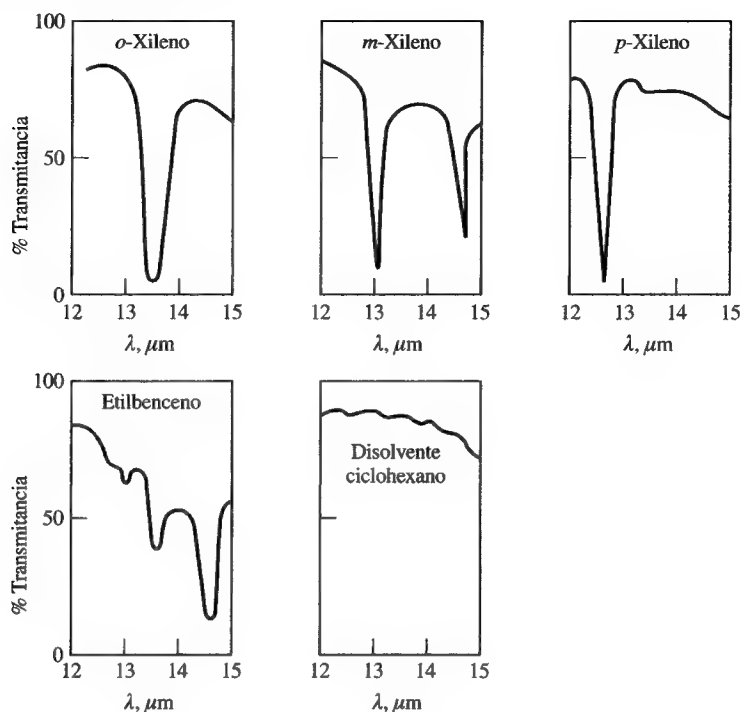


Figura 17-8. Espectros de los isómeros C_8H_{10} en ciclohexano.

12 a 15 μm . Los picos de absorción útiles para la determinación de los componentes individuales aparecen a 13,47; 13,01; 12,58 y 14,36 μm , respectivamente. Sin embargo, desafortunadamente, la absorbancia de una mezcla a cualquiera de estas longitudes de onda no se debe sólo a la concentración de un único componente, como consecuencia del solapamiento de las bandas de absorción. Por ello, es necesario determinar las absorptividades molares de cada uno de los compuestos en las cuatro longitudes de onda. A continuación, se pueden escribir cuatro ecuaciones que permiten el cálculo de la concentración de cada especie a partir de cuatro medidas de absorbancia (véase la página 369). Estos cálculos se efectúan mucho más fácilmente con un ordenador.

Cuando la relación entre la absorbancia y la concentración no es lineal (como ocurre a menudo en la región del infrarrojo), el tratamiento algebraico asociado a un análisis de varios componentes, cuyos picos de absorción se solapan, es considerablemente mucho más complejo⁸.

Determinación de contaminantes del aire. La reciente proliferación de normas oficiales con respecto a los contaminantes atmosféricos ha demandado el desarrollo de métodos sensibles, rápidos y altamente específicos para una variedad de compuestos químicos. Los procedimientos basados en la absorción en el infrarrojo parecen cumplir estos requisitos mejor que cualquier otra herramienta analítica sencilla.

La Tabla 17-3 muestra las posibilidades de la espectroscopia en el infrarrojo para el análisis de mezclas de gases. Una muestra patrón de aire, que contenía cinco especies de concentraciones conocidas, se analizó con el instrumento computarizado mostrado en la Figura 16-14; se utilizó una cubeta para gases de 20 m. Los datos se imprimieron después de uno o dos minutos de haber inyectado la muestra.

La Tabla 17-4 indica las posibles aplicaciones de los fotómetros de filtro en el infrarrojo (tal como el mostrado en la Fig. 16-12) para la determinación cuantitativa de diversas sustancias químicas presentes en la atmósfera, con el fin de asegurar el cumplimiento de las normas fijadas por la Occupational Safety and Health Administration, OSHA (Agencia de Salud y Seguridad Laboral).

⁸ Véase C. L. Lin, et al., *Appl. Spectrosc.*, **1979**, 33, 481, 487; D. M. Haaland y R. G. Easterling, *Ibid.*, **1980**, 34, 539; **1982**, 36, 665.

TABLA 17-3. Un ejemplo del análisis de contaminantes de aire por infrarrojo*

Contaminante	Concentración, ppm	Encontrado, ppm	Error relativo, %
Monóxido de carbono	50	49,1	1,8
Metiletilcetona	100	98,3	1,7
Alcohol metílico	100	99,0	1,0
Óxido de etileno	50	49,9	0,2
Cloroformo	100	99,5	0,5

* Cortesía de The Foxboro Company, Foxboro, MA.

De entre las más de 400 sustancias químicas para las cuales la OSHA ha establecido los límites máximos de tolerancia, más de la mitad poseen características de absorción adecuadas para su análisis en el infrarrojo mediante fotómetros de filtros o espectrofotómetros. Es evidente que con todos estos compuestos absorbentes hay que esperar un solapamiento entre sus picos, pero aun así, el método proporciona un grado bastante elevado de selectividad.

Inconvenientes y limitaciones de los métodos de infrarrojo cuantitativos

La aplicación de los métodos de infrarrojo al análisis cuantitativo tiene varios inconvenientes. Entre

ellos figura el frecuente incumplimiento de la ley de Beer y la complejidad de los espectros; esto último aumenta la probabilidad de solapamiento de los picos de absorción. Además, la agudeza de los picos y los efectos de la radiación parásita hacen que las medidas de la absorbancia dependan de una forma crítica de la anchura de la rendija y del ajuste de la longitud de onda. Por último, las cubetas estrechas, que se requieren para muchos análisis, son poco prácticas de utilizar y conducen a importantes incertidumbres analíticas. Por estos motivos, los errores analíticos asociados a un análisis infrarrojo cuantitativo, incluso poniendo mucho cuidado y esfuerzo, pocas veces pueden reducirse al nivel asociado con los métodos de ultravioleta y visible.

TABLA 17-4. Ejemplos de análisis de gases por infrarrojo de acuerdo con la OSHA*

Compuesto	Exposición permitida, ppm†	Longitud de onda, μm	Concentración mínima detectable, ppm‡
Disulfuro de carbono	4	4,54	0,5
Cloropreno	10	11,4	4
Diborano	0,1	3,9	0,05
Etilenodiamina	10	13,0	0,4
Cianuro de hidrógeno	4,7§	3,04	0,4
Metilmercaptano	0,5	3,38	0,4
Nitrobenceno	1	11,8	0,2
Piridina	5	14,2	0,2
Dióxido de azufre	2	8,6	0,5
Cloruro de vinilo	1	10,9	0,3

* Cortesía de The Foxboro Company, Foxboro, MA.

† Límites de exposición para una medida ponderada de los resultados obtenidos a lo largo de 8 horas; OSHA 1992-1993.

‡ Para cubetas de 20,25 m.

§ Límite de exposición a corto plazo: media ponderada tomada en 15 min que no excederá a cualquier valor obtenido durante el día de trabajo.

17B. ESPECTROMETRÍA DE REFLEXIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO⁹

La espectroscopia de reflexión en el infrarrojo ha encontrado varias aplicaciones, particularmente en el caso de muestras sólidas difíciles de manipular, como películas de polímeros y fibras, alimentos, gomas, productos agrícolas y muchos otros. Los espectros de reflexión en el infrarrojo medio, aunque no son idénticos a los correspondientes espectros de absorción, en general, son de apariencia similar y proporcionan la misma información que sus equivalentes de absorción. Los espectros de reflectancia se pueden utilizar tanto para el análisis cualitativo como cuantitativo. La mayoría de los actuales fabricantes de instrumentos ofrecen adaptadores que se colocan dentro de los compartimentos para las cubetas de los instrumentos de absorción en el infrarrojo y hacen posible la obtención, sencilla, de espectros de reflexión.

17B-1. Tipos de reflexión

La reflexión de la radiación es de cuatro tipos: *reflexión especular*, *reflexión difusa*, *reflexión interna* y *reflexión total atenuada* (ATR). La reflexión especular se observa cuando el medio reflectante es una superficie uniformemente pulida. En este caso, el ángulo de reflexión es idéntico al ángulo de incidencia de la radiación. Si la superficie contiene una sustancia capaz de absorber radiación del infrarrojo, la intensidad relativa de la reflexión es menor en las longitudes de onda donde la superficie absorbe que en las longitudes de onda en las que no hay absorción. Por ello, la representación gráfica de la reflectancia R , que es la fracción de la potencia radiante incidente que se refleja respecto a la longitud de onda o número de onda, proporciona un espectro para un compuesto que es similar, en su aspecto general, al espectro de transmisión de la especie. Los espectros de reflexión especular se puede utilizar para el examen y caracterización de las superficies lisas de sólidos y de sólidos revestidos pero no se utiliza tanto como los espectros de reflexión difusa y total. Por esta razón, este apartado se centrará en los dos últimos.

⁹ Véase G. Kortum, *Reflectance Spectroscopy*. New York: Springer, 1969; N. J. Harrick, *Internal Reflection Spectroscopy*. New York: Interscience, 1967.

17B-2. Espectrometría de reflectancia difusa

La espectrometría de reflectancia difusa en el infrarrojo de transformada de Fourier (DRIFTS) es una forma eficaz de obtener espectros en el infrarrojo directamente sobre muestras pulverizadas con un mínimo de preparación de la misma¹⁰. Además de ahorrar tiempo en la preparación de la muestra, permite la obtención de datos de la región espectral del infrarrojo convencional de muestras que no han sufrido una alteración de su estado original apreciable. Para que las medidas de reflectancia difusa tuvieran un uso extendido fue necesario esperar hasta disponer de forma general de instrumentos de transformada de Fourier, a mediados de los años setenta, ya que la intensidad de la radiación reflejada en una muestra pulverizada es demasiado baja para que pudiera medirse en los instrumentos dispersivos con la resolución y la relación señal/ruido adecuada.

La reflexión difusa es un proceso complejo que tiene lugar cuando un haz de radiación choca con la superficie de un polvo finamente dividido. En este tipo de muestras tiene lugar una reflexión especular en cada superficie plana. Sin embargo, como hay muchas superficies de éstas y se encuentran aleatoriamente orientadas, la radiación se refleja en todas las direcciones. Es característico que la intensidad de la radiación reflejada sea más o menos independiente del ángulo de visión.

Se han desarrollado varios modelos para describir la intensidad de la radiación reflejada difusa en términos cuantitativos. El más utilizado de estos modelos lo desarrollaron Kubelka y Munk¹¹. Fuller y Griffiths, en su discusión sobre este modelo, demostraron que la intensidad de la reflectancia relativa para una potencia de $f(R'_{\infty})$ viene dada por¹²

$$f(R'_{\infty}) = \frac{(1 - R'_x)^2}{2R'_{\infty}} = \frac{k}{s}$$

donde R'_{∞} es el cociente entre la intensidad reflejada por la muestra y la de un patrón no absorbente, como el cloruro de potasio finamente pulverizado.

¹⁰ Para una información adicional, véase M. P. Fuller y P. R. Griffiths, *Anal. Chem.*, **1978**, *50*, 1906; M. P. Fuller y P. R. Griffiths, *Appl. Spectrosc.*, **1980**, *34*, 533.

¹¹ P. Kubelka, *J. Opt. Soc.*, **1948**, *38*, 448.

¹² M. P. Fuller y P. R. Griffiths, *Anal. Chem.*, **1978**, *50*, 1906.

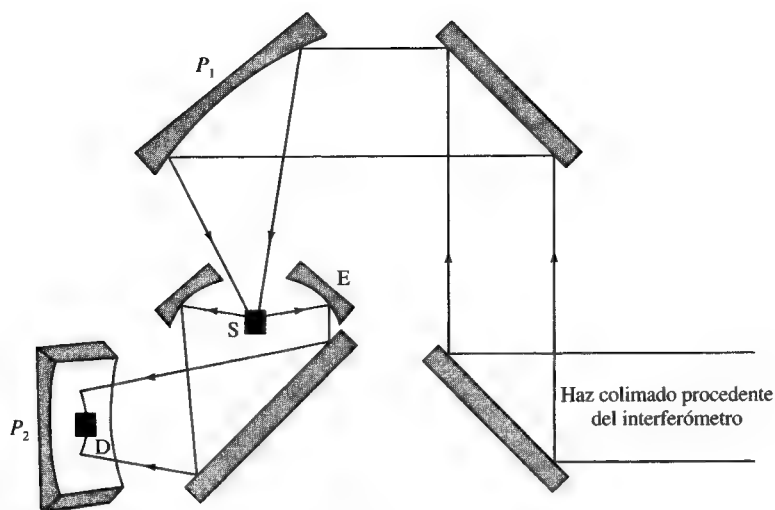


Figura 17-9. Accesorio de reflectancia difusa para un espectrómetro de transformada de Fourier. (Con autorización de M. P. Fuller y P. R. Griffiths, *Anal. Chem.*, 1978, 50, 1907).

La cantidad k es el coeficiente de absorción molar del analito y s es el coeficiente de dispersión. Para una muestra diluida, k está relacionado con la absorptividad molar ϵ y la concentración molar del analito c mediante la relación

$$k = 2,303 \epsilon c$$

Los espectros de reflectancia, por tanto, son una representación gráfica de $f(R'_{\infty})$ frente al número de onda (véase Fig. 17-10b).

Instrumentación

Actualmente, la mayoría de los fabricantes de instrumentos FTIR disponen de unos adaptadores que se colocan en los compartimentos de las cubetas y permiten realizar las medidas de reflectancia difusa. La Figura 17-9 ilustra un tipo de adaptador. El haz colimado, procedente del interferómetro, se refleja, mediante dos espejos planos, sobre un paraboloide P_1 fuera del eje, que enfoca la radiación sobre un pequeño recipiente que contiene la muestra pulverizada. La radiación que ha sufrido la reflexión difusa en la muestra, cuya superficie es de aproximadamente 4 mm de diámetro, se reúne con un espejo elipsoidal E y se enfoca, mediante un segundo paraboloide P_2 , sobre el detector D. Para obtener un espectro con un instrumento de haz sencillo, primero se almacena la señal de la muestra. Se registra una señal de referencia colocando en el lu-

gar de la muestra un buen reflector, como el cloruro de potasio finamente molido. La reflectancia se obtiene al dividir estas señales.

Comparación de los espectros de absorción y de reflexión

La Figura 17-10 compara el espectro de absorción en el infrarrojo convencional del carbazol obtenido mediante pastillas de KBr con el espectro de reflectancia difusa de una mezcla del 5 por 100 de carbazol en cloruro de potasio finamente molida. Obsérvese que la posición de los picos es la misma en ambos espectros pero la altura relativa de los picos difiere considerablemente. Las diferencias son características, los picos secundarios aparecen generalmente más grandes en el espectro de reflexión.

17B-3. Espectrometría de reflectancia total atenuada¹³

La espectroscopia de reflexión interna es una técnica que permite la obtención de espectros de infrarrojo de muestras que presentan alguna dificultad, como sólidos de limitada solubilidad, películas, fibras, pastas, adhesivos y polvos.

¹³ Véase G. Kortum, *Reflectance Spectroscopy*. New York: Springer, 1969; N. J. Harrick, *Internal Reflection Spectroscopy*. New York: Interscience, 1967; P. A. Wilks, *Amer. Lab.*, 1980 (6), 92.

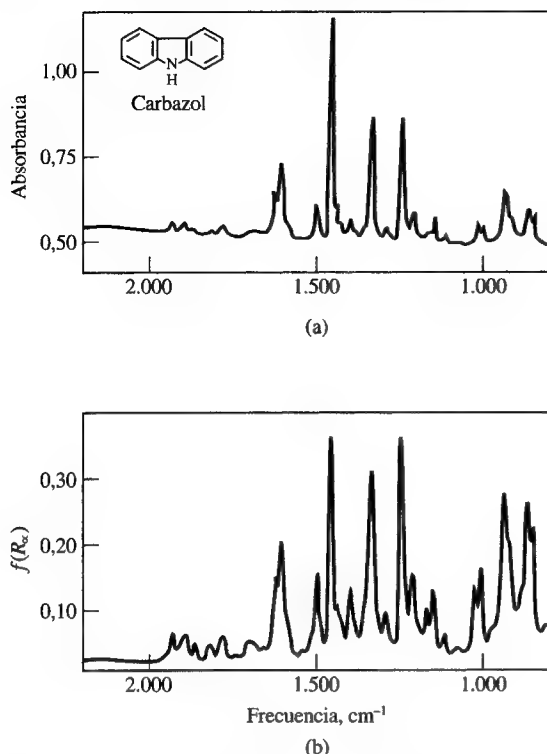


Figura 17-10. Comparación del espectro de absorción (a) del carbazol con su espectro de reflectancia difusa (b).

Principios del método

Cuando un haz de radiación pasa de un medio más denso a uno menos denso, se produce una reflexión. La fracción del haz incidente que se refleja es mayor a medida que aumenta el ángulo de incidencia; más allá de un cierto ángulo crítico, la reflexión es completa. Teórica y experimentalmente se ha demostrado que durante el proceso de reflexión el haz se comporta como si penetrara una cierta distancia en el medio menos denso antes de reflejarse¹⁴. La profundidad de penetración, que puede variar desde una fracción de longitud de onda a varias longitudes de onda, depende de la longitud de onda de la radiación incidente, del índice de refracción de los dos materiales, y del ángulo que forma el haz incidente con la interfase. La radiación que penetra se denomina *onda evanescente*. Si el medio menos denso absorbe la radiación evanescente, se produce una atenuación del haz en las longitudes de onda de las bandas de absorción. Este fenómeno se conoce como *reflectancia total atenuada* (ATR).

Instrumentación

La Figura 17-11 muestra un aparato para las medidas de la reflectancia total atenuada. Como se puede apreciar en la figura superior, la muestra (en este caso, un sólido) se coloca sobre las caras opuestas de un material cristalino transparente con un alto índice de refracción; a menudo se emplea una mezcla cristalina de bromuro de talio/yoduro de talio, y también placas de seleniuro de germanio y cinc. Ajustando adecuadamente el ángulo incidente, la radiación experimenta múltiples reflexiones internas antes de pasar del cristal al detector. En cada una de esas reflexiones tiene lugar la absorción y la atenuación.

En la Figura 17-11b se muestra un esquema de la óptica de un adaptador, disponible comercialmente, que se sitúa en el compartimento de las cubetas de la mayoría de los espectrómetros de infrarrojo y que permite las medidas de la reflectancia total atenuada. Obsérvese que se puede elegir el ángulo de incidencia entre 30°, 45° o 60°. También se puede disponer de cubetas para muestras líquidas.

Espectros de reflectancia total atenuada

Los espectros de reflectancia total atenuada son similares, pero no idénticos, a los espectros de absorción ordinarios. En general, se observan los mismos picos pero sus intensidades relativas son distintas. Las absorbancias, aunque dependen del ángulo de incidencia, son independientes del espesor de la muestra, debido a que la radiación sólo penetra unos pocos micrómetros en la muestra.

Una de las mayores ventajas de la espectroscopia de reflectancia total atenuada es que, con una mínima preparación, se pueden obtener fácilmente los espectros de absorción de una gran variedad de tipos de muestras. Se pueden estudiar fibras, hilos y tejidos comprimiendo las muestras sobre el cristal denso. De una forma semejante se pueden manipular pastas, polvos o suspensiones. También se pueden analizar disoluciones acuosas siempre que el cristal sea insoluble en agua. Cuando se trata de muestras líquidas, se introduce el cristal ATR en el líquido. La espectroscopia de reflectancia total atenuada se ha aplicado a muchas sustancias como polímeros, gomas y otros sólidos. Es interesante subrayar que los espectros resultante están libres de los frentes de interferencia mencionados en el apartado previo.

¹⁴ J. Fahrenfort, *Spectrochem. Acta*, **1961**, 17, 698.

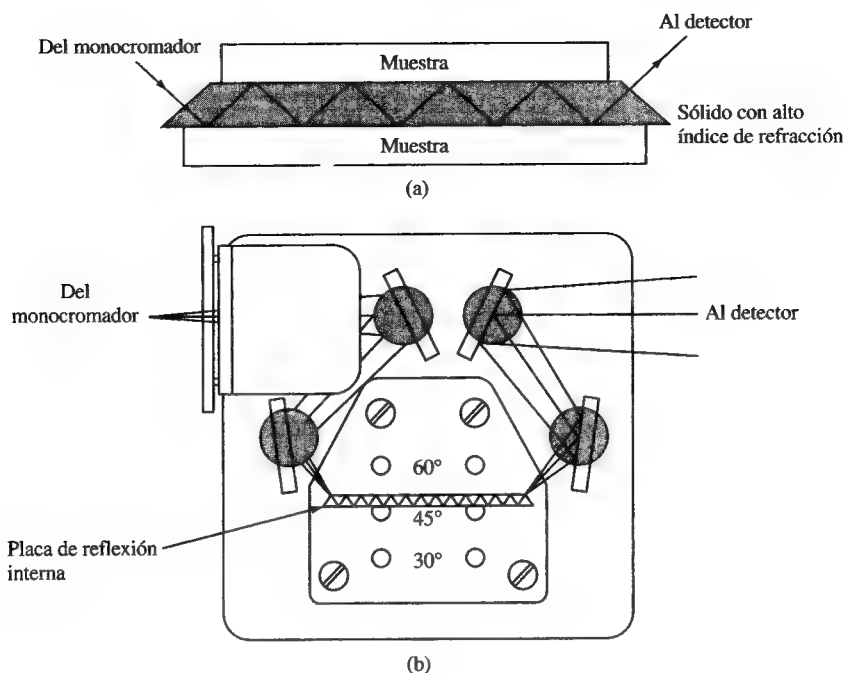


Figura 17-11. Aparato de reflectancia total atenuada. (a) Muestra colocada sobre la placa de reflexión; (b) adaptador de reflexión interna. (Cortesía de The Foxboro Company, Foxboro, MA.)

17C. ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA EN EL INFRARROJO

En el Apartado 14F, que trataba brevemente los principios de las medidas fotoacústicas, se señalaba que esta técnica se ha utilizado para la obtención de espectros en estudios cualitativos en la región del infrarrojo medio¹⁵. Como en los estudios espectrales en el ultravioleta y visible, es adecuado aplicar esta técnica a las muestras sólidas y líquidas que, debido a su tendencia a dispersar la radiación, son difíciles de manipular por las técnicas ordinarias. Además, el método se ha aplicado para detectar los componentes de mezclas separados por cromatografía en capa fina y por cromatografía de líquidos de alta eficacia. La mayoría de estos trabajos se han realizado con instrumentos de transformada de Fourier debido a su mejor relación señal/ruido. La mayoría de los fabricantes disponen de cubetas fotoacústicas como accesorios para los instrumentos de FTIR.

La espectroscopia fotoacústica en el infrarrojo se ha utilizado también para el control de contami-

nantes gaseosos en la atmósfera¹⁶. En este caso, se emplea una fuente láser sintonizable de dióxido de carbono junto con una cubeta fotoacústica. Se ha diseñado un sistema de este tipo para analizar una mezcla de 10 gases con una sensibilidad de 1 ppb y en un tiempo de 5 min.

17D. ESPECTROSCOPIA EN EL INFRARROJO CERCANO¹⁷

La región espectral del infrarrojo cercano (NIR) se extiende desde el extremo superior de longitudes de onda del visible, a alrededor de 770 nm, hasta 2.500 nm (de 13.000 cm^{-1} a 4.000 cm^{-1})¹⁸. Las bandas de absorción en esta zona son sobretonos o

¹⁶ Véase, por ejemplo, L. B. Kreuzer, *Anal. Chem.*, **1974**, 46, 239A.

¹⁷ Para una referencia general sobre NIR, véase *Handbook of Near-Infrared Analysis*, D. R. Burns y E. W. Ciurczak, Eds. New York: Marcel Dekker, 1992. Para una revisión de las aplicaciones y de los instrumentos modernos para NIR, véase W. F. McClure, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 43A.

¹⁸ En la bibliografía de espectrometría de infrarrojo cercano, en la abscisa se representa normalmente la longitud de onda en nanómetros o micrómetros a diferencia de los espectros de infrarrojo medio en los que en la abscisa se representa la longitud de onda en unidades de cm^{-1} .

¹⁵ Para una revisión de las aplicaciones de esta técnica, véase J. F. McClelland, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 89A.

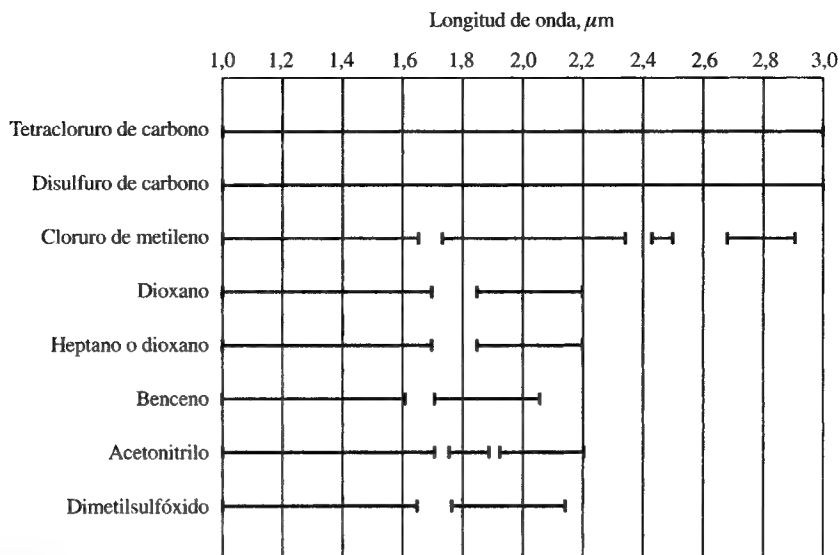


Figura 17-12. Algunos disolventes utilizados en espectroscopia en el infrarrojo cercano. Las líneas continuas indican una transparencia satisfactoria para emplearlos con cubetas de 1 cm.

combinaciones (página 412) de las bandas vibracionales de tensión fundamentales que se producen en la región de 3.000 a 1.700 cm^{-1} . Los enlaces implicados son, por lo general, C—H, N—H y O—H. Debido a que se trata de sobretonos o bandas de combinación, sus absorptividades molares son pequeñas y los límites de detección son del orden del 0, 1 por 100.

A diferencia de la espectrometría en el infrarrojo medio, el uso más importante de la radiación en el infrarrojo cercano es en la determinación *cuantitativa* de rutina de especies tales como agua, proteínas, hidrocarburos de bajo peso molecular y grasas en productos agrícolas, alimentos, petróleo e industria química. Se utilizan tanto las medidas de reflexión difusa como las de transmisión, aunque la reflectancia difusa es, con mucho, la más utilizada.

17D-1. Instrumentación

La instrumentación utilizada en la región del infrarrojo cercano es semejante a la utilizada en la espectroscopia de absorción ultravioleta/visible. Como fuentes se utilizan las lámparas de wolframio con ventanas de cuarzo; por lo general, las cubetas son de cuarzo o sílice fundida que son transparentes hasta aproximadamente 3.000 nm . La longitud de las cubetas varía de $0,1$ a 10 cm . Los detectores normalmente son fotoconductores de sulfuro de plomo. Varios espectrofotómetros comerciales es-

tán diseñados para trabajar desde 180 a 2.500 nm , y de este modo se pueden utilizar para obtener espectros en el infrarrojo cercano.

Comercialmente se dispone de una multitud de fotómetros y espectrofotómetros diseñados específicamente para la región del infrarrojo cercano¹⁹. La variedad de instrumentos es enorme. Los más sofisticados son instrumentos de doble haz con red de difracción, diodos en serie, o transformada de Fourier. También se puede disponer de instrumentos más sencillos que constan de uno o más filtros de interferencias (véase Fig. 17-14).

En los estudios realizados en la región del infrarrojo cercano se utilizan varios disolventes. En la Figura 17-12 se enumeran algunos de ellos. Obsérvese que el tetracloruro de carbono y el disulfuro de carbono son los únicos disolventes transparentes en toda la región de infrarrojo cercano.

17D-2. Aplicaciones de la espectrometría de absorción en el infrarrojo cercano

A diferencia de la espectroscopia en el infrarrojo medio, los espectros de absorción en el infrarrojo

¹⁹ Para un listado de las fuentes utilizadas en los equipos de infrarrojo cercano, véase W. F. McClure, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 46A; D. Noble, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 735A.

cercano son menos útiles para la identificación y más útiles para el análisis cuantitativo de compuestos que contengan agrupaciones funcionales formadas por uniones entre hidrógeno y carbono, o entre nitrógeno y oxígeno. Estos compuestos se pueden determinar, a menudo, con exactitudes y precisiones más parecidas a las de la espectroscopia ultravioleta/visible que a las de la espectroscopia en el infrarrojo medio. Algunas aplicaciones incluyen la determinación de agua en una variedad de muestras como glicerol, hidrazina, películas orgánicas y ácido nítrico fumante. La determinación cuantitativa de fenoles, alcoholes, ácidos orgánicos e hidroperóxidos se basa en el primer sobretono de la vibración de tensión O-H que absorbe a alrededor de 7.100 cm^{-1} ($1,4\text{ }\mu\text{m}$); la determinación de ésteres, cetonas y ácidos carboxílicos se basa en su absorción en la región de 3.300 a 3.600 cm^{-1} ($2,8$ a $3,0\text{ }\mu\text{m}$). En este caso la absorción corresponde al primer sobretono de la vibración de tensión del carbonilo.

La espectrofotometría en el infrarrojo cercano es, también, una valiosa técnica para la identificación y determinación de aminas primarias y secundarias en mezclas en presencia de aminas terciarias. Los análisis se llevan a cabo, por lo general, en disoluciones de tetracloruro de carbono y en cubetas de 10 cm . Las aminas primarias se determinan directamente midiendo la absorbancia de bandas de combinación de la tensión N—H alrededor de 5.000 cm^{-1} ($2,0\text{ }\mu\text{m}$); en esta región no absorben ni las aminas secundarias ni las terciarias. Las aminas primarias y secundarias tienen varias bandas de absorción superpuestas en la zona de 3.300 a 10.000 cm^{-1} (1 a $3\text{ }\mu\text{m}$), debido a las vibraciones de tensión N—H y sus sobretonos, mientras que las aminas terciarias no pueden presentar estas bandas. De este modo, una de estas bandas permite hallar la concentración de la amina secundaria después de corregir la absorción por la amina primaria.

17D-3. Aplicaciones de la espectrometría de reflectancia en el infrarrojo cercano

La espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano se ha convertido en la herramienta más importante para la determinación cuantitativa rutinaria de los componentes de sólidos finamente divididos. El uso más extendido de esta técnica ha sido

en la determinación de proteínas, humedad, almidón, aceites, lípidos y celulosa en productos agrícolas tales como granos y semillas oleaginosas²⁰. Por ejemplo, Canadá vende todo su trigo con el contenido de proteína garantizado; por esta razón, antiguamente la Canadian Grain Commission realizaba más de 600.000 determinaciones de proteínas por el método de Kjeldahl. Actualmente, se estima que del 80 al 90 por 100 de las proteínas de todo el grano canadiense se determinan por espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano, lo que comporta un ahorro en costes de análisis de más de 500.000 dólares anuales²¹.

En la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano, la muestra sólida, finamente pulverizada, se irradia con una o más bandas estrechas de radiación de longitudes de onda comprendidas entre 1 y $2,5\text{ }\mu\text{m}$, o 10.000 y 4.000 cm^{-1} . Se produce una *reflectancia difusa*, en la que la radiación penetra la capa superficial de las partículas, excita los modos de vibración de las moléculas del analito, y luego se dispersa en todas direcciones. De este modo, se produce un espectro de reflectancia que depende de la composición de la muestra. En la Figura 17-13 se muestra un espectro de reflectancia característico de una muestra de trigo. En este caso la ordenada es el logaritmo de la inversa de la reflectancia R , $\log (1/R) = -\log R$, donde R es el cociente entre la intensidad de radiación reflejada por la muestra y la reflectancia de un patrón reflectante, como sulfato de bario u óxido de magnesio finamente pulverizados. La banda de reflectancia a 1.940 nm corresponde a un pico del agua que se utiliza en las determinaciones de la humedad. El pico cercano a 2.100 nm corresponde, de hecho, a dos picos que se solapan, uno del almidón y otro de la proteína. Realizando medidas a dos longitudes de onda en esta región, se pueden determinar las concentraciones de cada uno de esos componentes.

Los instrumentos para las medidas de reflectancia difusa se encuentran ya comercializados. Algunos de esos equipos emplean varios filtros de interferencia para proporcionar bandas de radiación estrechas. Otros están equipados con monocromadores de red. Por lo general, las medidas de reflectancia se efectúan a dos o más longitudes de onda por cada analito que se vaya a determinar. La Figura 17-14 muestra un esquema de un instrumen-

²⁰ Véase C. Watson, *Anal. Chem.*, **1977**, *49*, 835A; D. L. Wetzel, *Anal. Chem.*, **1983**, *55*, 1165A.

²¹ S. A. Borman, *Anal. Chem.*, **1984**, *56*, 933A.

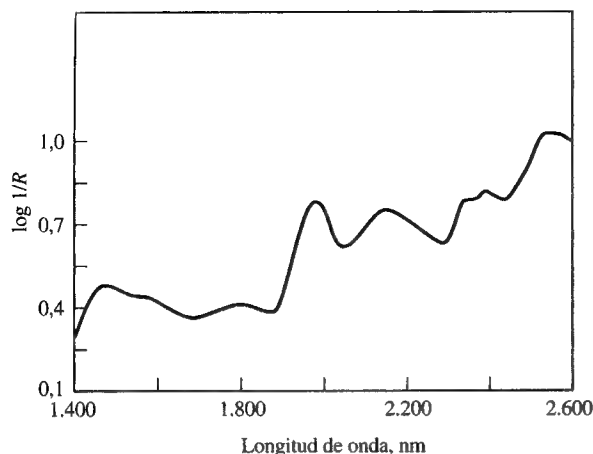


Figura 17-13. Espectro de reflectancia difusa de una muestra de trigo.

to de filtros característico. Las paredes interiores de la esfera de integración que rodea a la muestra están recubiertas con un material reflectante difuso casi perfecto como el sulfato de bario. La radiación reflejada por la muestra alcanza finalmente los detectores, después de múltiples reflexiones en las paredes de la esfera. El espejo basculante permite medir el cociente entre la intensidad de la radiación reflejada por la muestra y la reflejada por la pared.

La calibración del instrumento, como el que se muestra en la Figura 17-14, es a menudo la tarea más complicada. En primer lugar, se debe disponer de 30 o más muestras de material a analizar con una concentración de analito semejante a la que se va a encontrar en la muestra verdadera. Por ejemplo, para la determinación de proteína en trigo, se necesitan de 30 a 50 muestras de trigo que contengan de un 10 a un 20 por 100 de proteína. Se realiza, entonces, un análisis químico cuidadoso mediante el procedimiento estándar de Kjeldahl para la determinación de proteínas. Para la medida de la reflectancia, las muestras se pulverizan hasta un tamaño de partícula reproducible y se mide su reflectancia a dos o más longitudes de onda. Para establecer las longitudes de onda óptimas de medida se ha de emplear un tiempo y un esfuerzo considerables. A partir de este estudio, se desarrollan y comprueban las ecuaciones que relacionan las reflectancias medidas con el porcentaje de proteína. Honigs y otros autores han discutido con más detalle dichos procedimientos de calibración²².

La gran ventaja de los métodos de reflectancia en el infrarrojo cercano es su rapidez y la sencillez en la preparación de la muestra. Una vez que se ha

²² D. E. Honigs, G. M. Hieftje, H. L. Mark y T. Hirschfeld, *Anal. Chem.*, **1985**, 57, 2299; D. E. Honigs, G. M. Hieftje y T. Hirschfeld, *Appl. Spectrosc.*, **1984**, 38, 1984.

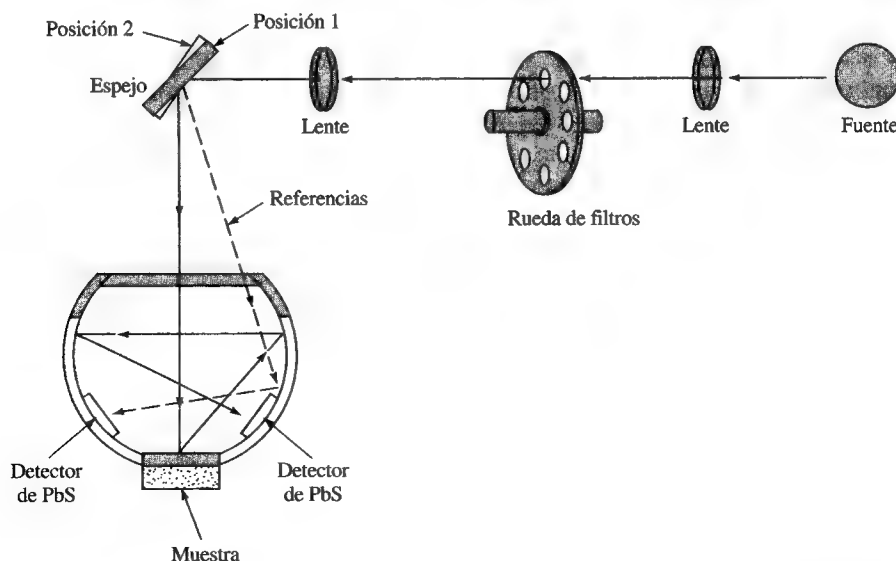


Figura 17-14. Fotómetro de reflectancia difusa. Espejo en la posición 1: da la reflectancia de la muestra (I). Espejo en la posición 2: da la reflectancia de la zona de reflectancia estándar (I_0). Reflectancia = $R = I/I_0$. (Con autorización de D. L. Wetzel, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 1174A.)

completado el desarrollo del método, se puede realizar el análisis de varias especies en muestras sólidas en pocos minutos. En general, se encuentran exactitudes y precisiones relativas del 1 al 2 por 100.

17E. ESPECTROSCOPIA EN EL INFRARROJO LEJANO

La región del infrarrojo lejano resulta especialmente útil en el estudio de compuestos inorgánicos, puesto que la absorción debida a las vibraciones de tensión y flexión de los enlaces entre átomos metálicos y ligandos inorgánicos u orgánicos tiene lugar, generalmente, a frecuencias inferiores a 650 cm^{-1} ($>15\text{ }\mu\text{m}$). Por ejemplo, los yoduros de metales pesados suelen absorber en la región inferior a los 100 cm^{-1} , mientras que los bromuros y los cloruros presentan bandas a frecuencias superiores. Las frecuencias de absorción de los enlaces organometálicos dependen, por lo común, tanto del átomo metálico como de la porción orgánica de la especie.

Los estudios de compuestos inorgánicos en el infrarrojo lejano proporcionan también una información útil acerca de las energías reticulares de los cristales, y de las energías de transición de los materiales semiconductores.

Las moléculas formadas exclusivamente por átomos ligeros, absorben en el infrarrojo lejano si poseen modos de flexión de esqueleto que impliquen a más de dos átomos que no sean hidrógeno. Los derivados del benceno sustituido son ejemplos importantes, los cuales, por lo general, presentan varios picos de absorción. Los espectros son, a menudo, bastante específicos y útiles para la identificación de un compuesto particular; para asegurarse, en la región del infrarrojo lejano también se dispone de frecuencias de grupo características.

En la región del infrarrojo lejano se observa la absorción rotacional pura de los gases, siempre que las moléculas presenten momentos dipolares permanentes. Algunos ejemplos son: H_2O , O_3 , HCl y AsH_3 . La absorción debida al agua es problemática; la eliminación de su interferencia requiere su eliminación o al menos la purga del espectrómetro.

Los espectrómetros de transformada de Fourier son especialmente útiles en los estudios de infrarrojo lejano. La ventaja en cuanto a energía del sistema interferométrico respecto al dispersivo, es que permite, por lo general, una mejora significati-

va de la calidad espectral. Además, la aplicación de redes en esta región espectral resulta complicada por la superposición de los distintos órdenes de la radiación difractada.

17F. ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN EN EL INFRARROJO

Las moléculas que absorben radiación infrarroja, al calentarse, también son capaces de emitir longitudes de onda características en el infrarrojo. El principal obstáculo para la aplicación analítica de este fenómeno ha sido la muy baja relación señal/ruido que caracteriza a la señal de emisión infrarroja, especialmente cuando la muestra se encuentra a una temperatura sólo ligeramente superior a la ambiental. Con el desarrollo del método interferométrico, han aparecido en la bibliografía actual aplicaciones útiles e interesantes.

Uno de los primeros ejemplos de la aplicación de la espectroscopia de emisión infrarroja se encuentra en un trabajo que describe la utilización de un espectrómetro de transformada de Fourier para la identificación de plaguicidas en niveles de microgramos²³. Las muestras se prepararon disolviéndolas en un disolvente adecuado, y se evaporaron en una placa de NaCl o KBr . Posteriormente se calentó la placa eléctricamente cerca de la entrada del espectrómetro. Los pesticidas como el DDT, malatión y dieldrin se identificaron en cantidades tan pequeñas como de 1 a $10\text{ }\mu\text{g}$.

Igualmente interesante ha sido el empleo de la técnica interferométrica para la detección remota de los compuestos emitidos por las chimeneas de las industrias. En una de estas aplicaciones se colocó un interferómetro en un telescopio reflector de 20 cm ²⁴. Enfocando el telescopio hacia el penacho de humo de la planta industrial, se detectaron fácilmente CO_2 y SO_2 a muchos metros de distancia. De una forma semejante, el sistema de sensor óptico de emisiones por control remoto de la U.S. Environmental Protection Agency (Agencia de Protección Medioambiental de Estados Unidos), emplea un telescopio de 30 cm para recoger la radiación de los penachos industriales que se encuentran a una cierta distancia, y dirigirla hacia el interferómetro de un

²³ I. Coleman y M. J. D. Low, *Spectrochim. Acta*, **1966**, 22, 1293.

²⁴ M. J. D. Low y F. K. Clancy, *Env. Sci. Technol.*, **1967**, 1, 73.

instrumento de infrarrojo de transformada de Fourier²⁵.

17G. MICROESPECTROMETRÍA EN EL INFRARROJO

La microespectrometría en el infrarrojo se utiliza para obtener los espectros de absorción y reflexión de especies presentes en muestras cuyas dimensiones físicas se encuentran en el intervalo de 10 a 500 μm ²⁶. Los microscopios de infrarrojo, cuyos primeros equipos fueron presentados por varios fabricantes de instrumentos en los años ochenta, constan, en general, de dos microscopios, uno es un microscopio óptico normal y el otro es un dispo-

sitivo de infrarrojo con sistemas ópticos de reflexión que reducen el tamaño del haz infrarrojo hasta aproximadamente el mismo tamaño de la muestra. El microscopio óptico se utiliza para localizar visualmente la partícula o mancha que constituye la muestra a estudiar, con el haz infrarrojo. La fuente de infrarrojo es un espectrómetro de transformada de Fourier normal y no un instrumento con red de difracción debido a la muy superior sensibilidad del primero. Por lo general, el detector suele ser un dispositivo de fotoconductividad MCT (telururo de cadmio/mercurio) enfriado con nitrógeno líquido, que es más sensible que otros tipos de detectores de infrarrojo.

El uso de la microscopia de infrarrojo está todavía en sus inicios, pero parece ser una técnica que en el futuro encontrará cada vez más aplicaciones. Entre sus actuales aplicaciones se encuentran: identificación de contaminantes de polímeros, imperfecciones en las películas de polímeros y capas individuales de hojas de polímeros laminados; identificación de muestras de fibras diminutas, pinturas y explosivos en criminología; caracterización de hebras en la industria textil; e identificación de contaminantes en los componentes electrónicos.

²⁵ W. F. Herget, en *Fourier Transform Infrared Spectroscopy; Applications to Chemical Systems*, J. R. Ferraro y L. J. Basile, Eds., Vol. 2, págs. 111-127. New York: Academic Press, 1979.

²⁶ Para monografías sobre microespectroscopia en el infrarrojo, véase *Practical Guide To Infrared Microspectroscopy*, H. J. Humecki, Ed. New York: Marcel Dekker, 1995; *Infrared Microscopy*, R. G. Messerschmidt y M. A. Harthcock, Eds. New York: Marcel Dekker, 1988. Para revisiones más cortas, véase J. E. Caton, G. E. Pacey y J. F. O'Keefe, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 465A; J. A. Caton y A. J. Sommer, *Anal. Chem.*, **1992**, 64, 931A.

17H. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 17-1. La ciclohexanona presenta su pico infrarrojo más intenso a 5,86 μm , a esta longitud de onda existe una relación lineal entre la absorbancia y la concentración.
- Identificar qué parte de la molécula es la responsable de la absorción a esta longitud de onda.
 - Sugerir un disolvente adecuado para el análisis cuantitativo de ciclohexanona a esta longitud de onda.
 - Una disolución de ciclohexanona (2,0 mg/mL) en el disolvente seleccionado en el apartado (b) muestra una absorbancia de 0,40, en una cubeta de 0,025 mm de camino óptico. ¿Cuál es el límite de detección para este compuesto en esas condiciones, si el ruido asociado con el espectro del disolvente es de 0,001 unidades de absorbancia?
- 17-2. El espectro de la Figura 17-15 corresponde a un líquido de fórmula empírica $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$. Identificar el compuesto.
- 17-3. El espectro de la Figura 17-16 es el de un líquido de elevado punto de ebullición cuya fórmula empírica es $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}$. Identificar lo más aproximadamente posible el compuesto.
- 17-4. El espectro de la Figura 17-17 corresponde a un líquido de olor acre con un punto de ebullición de 50 °C, y que tiene un peso molecular de alrededor de 56. ¿Cuál es el compuesto? ¿Qué impureza es evidente que contiene?

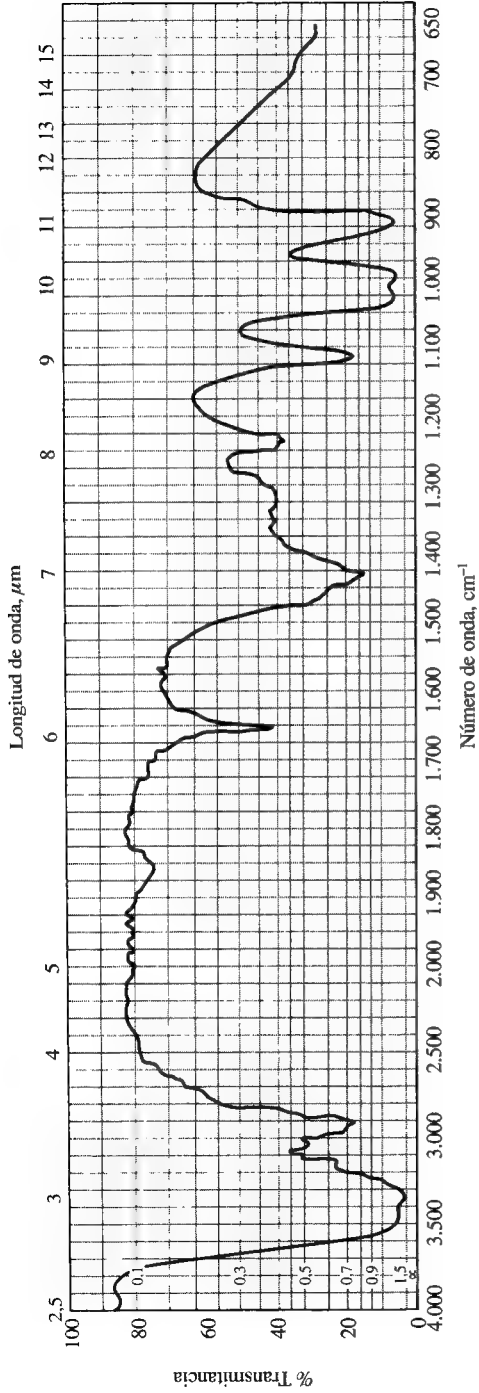


Figura 17-15. Véase el Problema 17-2. (Espectro cortesía de Thermodynamics Research Center Data Project, Texas A & M University, College Station, Texas.)

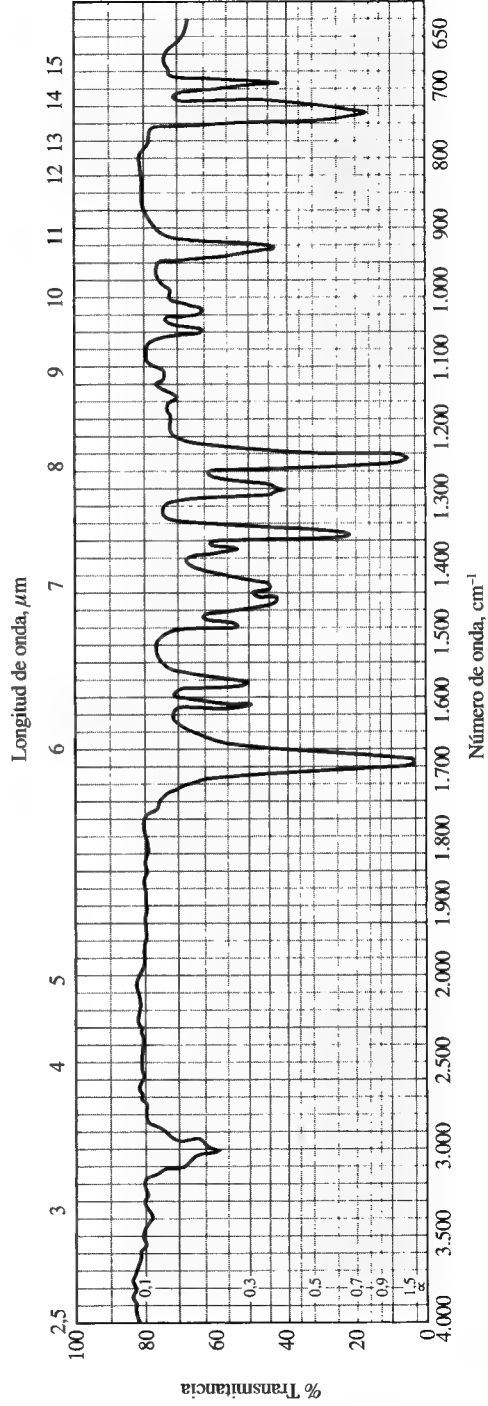


Figura 17-16. Véase el Problema 17-3. (Espectro cortesía de Thermodynamics Research Center Data Project, Texas A & M University, College Station, Texas.)

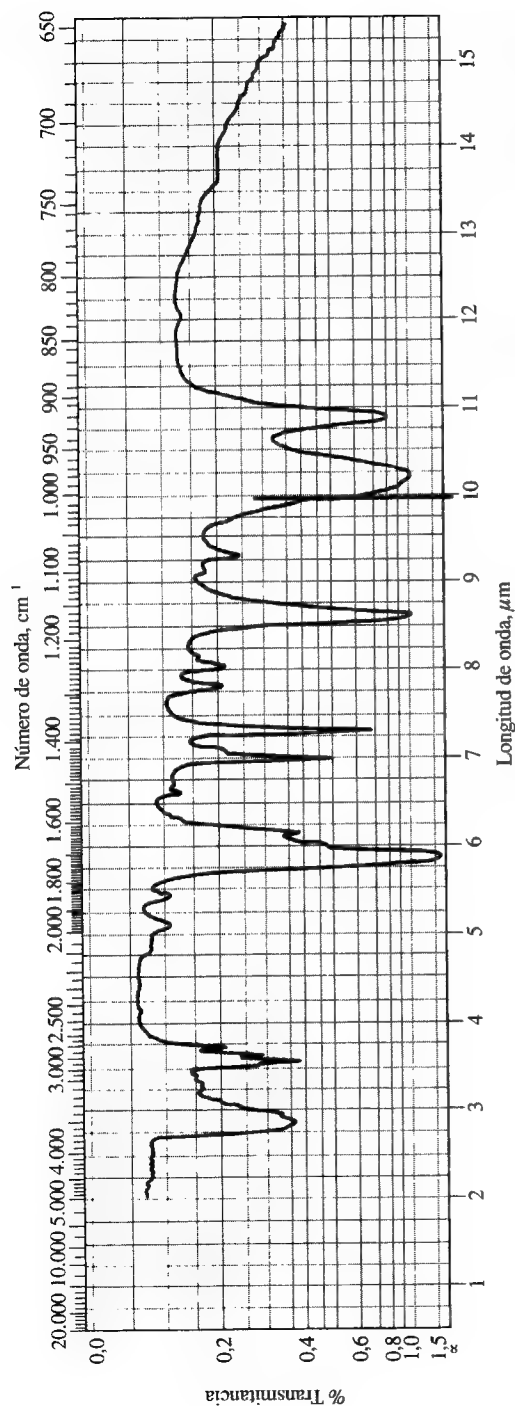


Figura 17-17. Véase el Problema 17-4. (Espectro cortesía de Thermodynamics Research Center Data Project, Texas A & M University, College Station, Texas.)

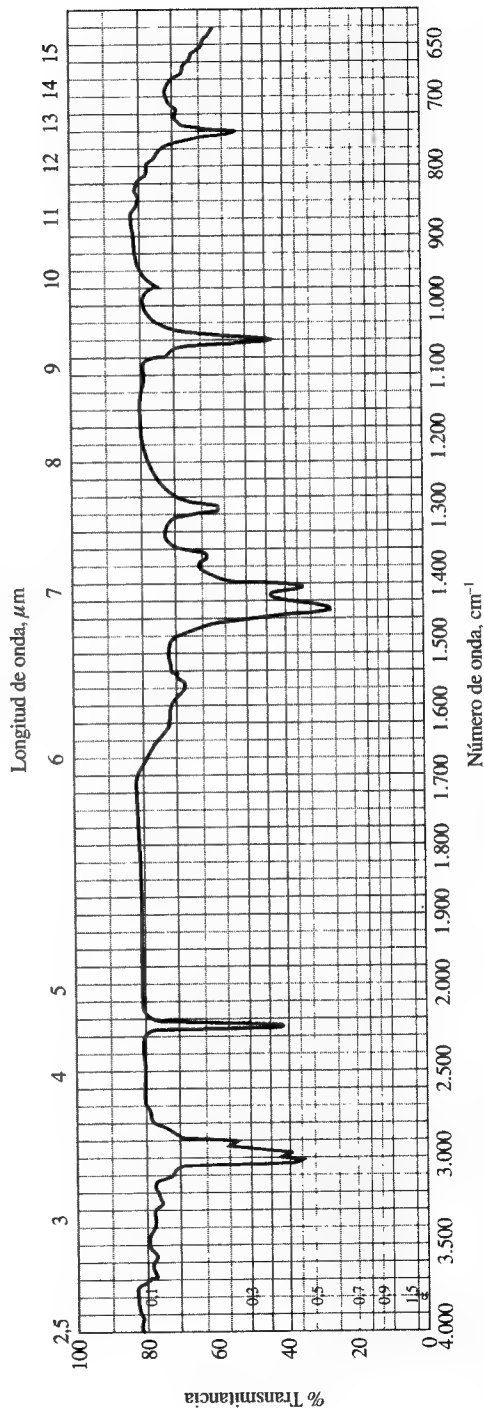
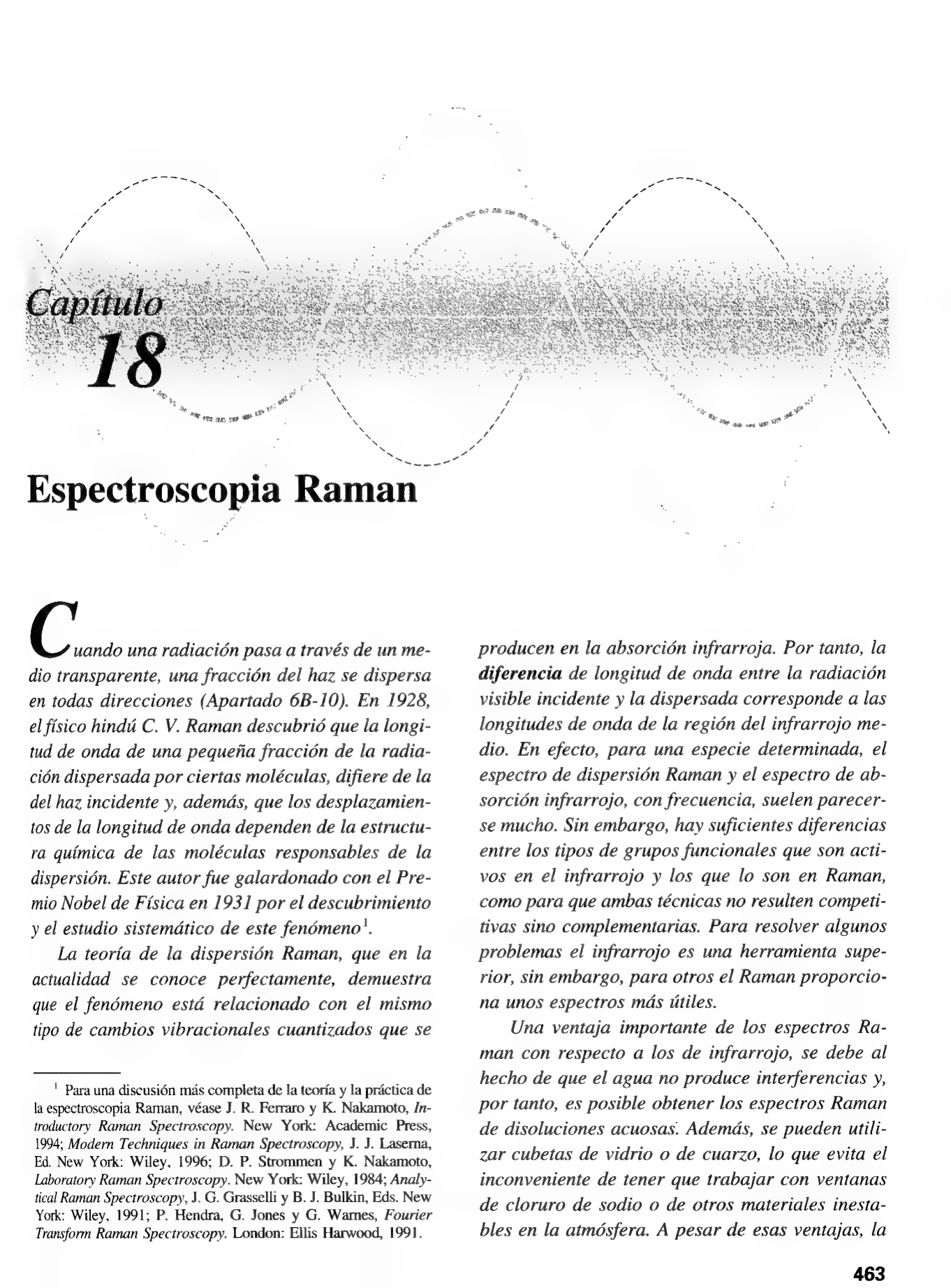


Figura 17-18. Véase el Problema 17-5. (Espectro cortesía de Thermodynamics Research Center Data Project, Texas A & M University, College Station, Texas.)

- 17-5.** El espectro de la Figura 17-18 es el de una sustancia que contiene nitrógeno y que hierve a 97 °C. ¿De qué compuesto se trata?
- 17-6.** ¿Por qué los métodos analíticos cuantitativos que utilizan radiación del infrarrojo cercano parecen ser más precisos y exactos que los que utilizan radiación del infrarrojo medio?
- 17-7.** ¿Por qué los espectros de infrarrojo medio a menudo tienen zonas con valores de transmitancia negativos?
- 17-8.** ¿Por qué los espectros de infrarrojo rara vez presentan regiones donde la transmitancia llega al 100 por 100?
- 17-9.** Una cubeta vacía presentó 12 picos de interferencia en el intervalo de longitudes de onda de 6,0 a 12,2 μm . Calcular el camino óptico de la cubeta.
- 17-10.** Una cubeta vacía presentó 9,5 picos de interferencia en la región comprendida entre 1.250 y 1.480 cm^{-1} . ¿Cuál es el camino óptico de la cubeta?
- 17-11.** Estimar el espesor de la película de poliestireno que originó el espectro que se ha mostrado en la Figura 16-1.



Capítulo 18

Espectroscopia Raman

Cuando una radiación pasa a través de un medio transparente, una fracción del haz se dispersa en todas direcciones (Apartado 6B-10). En 1928, el físico hindú C. V. Raman descubrió que la longitud de onda de una pequeña fracción de la radiación dispersada por ciertas moléculas, difiere de la del haz incidente y, además, que los desplazamientos de la longitud de onda dependen de la estructura química de las moléculas responsables de la dispersión. Este autor fue galardonado con el Premio Nobel de Física en 1931 por el descubrimiento y el estudio sistemático de este fenómeno¹.

La teoría de la dispersión Raman, que en la actualidad se conoce perfectamente, demuestra que el fenómeno está relacionado con el mismo tipo de cambios vibracionales cuantizados que se

producen en la absorción infrarroja. Por tanto, la **diferencia** de longitud de onda entre la radiación visible incidente y la dispersada corresponde a las longitudes de onda de la región del infrarrojo medio. En efecto, para una especie determinada, el espectro de dispersión Raman y el espectro de absorción infrarrojo, con frecuencia, suelen parecerse mucho. Sin embargo, hay suficientes diferencias entre los tipos de grupos funcionales que son activos en el infrarrojo y los que lo son en Raman, como para que ambas técnicas no resulten competitivas sino complementarias. Para resolver algunos problemas el infrarrojo es una herramienta superior, sin embargo, para otros el Raman proporciona unos espectros más útiles.

Una ventaja importante de los espectros Raman con respecto a los de infrarrojo, se debe al hecho de que el agua no produce interferencias y, por tanto, es posible obtener los espectros Raman de disoluciones acuosas. Además, se pueden utilizar cubetas de vidrio o de cuarzo, lo que evita el inconveniente de tener que trabajar con ventanas de cloruro de sodio o de otros materiales inestables en la atmósfera. A pesar de esas ventajas, la

¹ Para una discusión más completa de la teoría y la práctica de la espectroscopia Raman, véase J. R. Ferraro y K. Nakamoto, *Introductory Raman Spectroscopy*. New York: Academic Press, 1994; *Modern Techniques in Raman Spectroscopy*, J. J. Laserna, Ed. New York: Wiley, 1996; D. P. Strommen y K. Nakamoto, *Laboratory Raman Spectroscopy*. New York: Wiley, 1984; *Analytical Raman Spectroscopy*, J. G. Grasselli y B. J. Bulkin, Eds. New York: Wiley, 1991; P. Hendra, G. Jones y G. Warnes, *Fourier Transform Raman Spectroscopy*. London: Ellis Harwood, 1991.

espectroscopia Raman no ha sido muy utilizada por los químicos para los estudios estructurales hasta que en los años sesenta se pudo disponer de los láseres, los cuales han permitido obtener los espectros más fácilmente. Otro impedimento para la utilización de la espectroscopia Raman ha sido la interferencia de la fluorescencia de la muestra o de sus impurezas. Este problema se ha solucionado en gran medida en la actualidad con el uso de fuentes de láser infrarrojo.

18A. TEORÍA DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN

Los espectros Raman se obtienen al irradiar una muestra con una potente fuente de radiación monocromática visible o infrarroja. Durante la irradiación, se registra el espectro de la radiación dispersada un cierto ángulo (por lo general 90 grados) con un espectrómetro adecuado. Como mucho, las intensidades de las líneas Raman son el 0,001 por 100 de la intensidad de la fuente y, en consecuencia, su detección y medida resulta más difícil que el espectro infrarrojo. Una excepción a lo afirmado se produce en la espectroscopia Raman de resonancia, la cual es considerablemente más sensible que la espectroscopia Raman normal. La espectroscopia Raman de resonancia se describe en el Apartado 18D-1.

18A-1. Excitación de los espectros Raman

La Figura 18-1 representa una parte de un espectro Raman, obtenida al irradiar una muestra de tetracloruro de carbono con un intenso haz de un láser de argón de longitud de onda 488,0 nm (20.492 cm^{-1}). La radiación emitida es de tres tipos: dispersión Stokes, dispersión anti-Stokes y dispersión Rayleigh. La última, cuya longitud de onda coincide con la de la fuente de excitación, es significativamente más intensa que cualquiera de las otras dos.

Como es usual en los espectros Raman, en la abscisa de la Figura 18-1 se representa el desplazamiento del número de onda $\Delta\bar{\nu}$, que se define como la diferencia, en números de onda (cm^{-1}), entre la radiación observada y la de la fuente. Obsérvese que hay tres picos Raman a cada lado del pico Rayleigh, y que el modelo de desplazamiento es idéntico

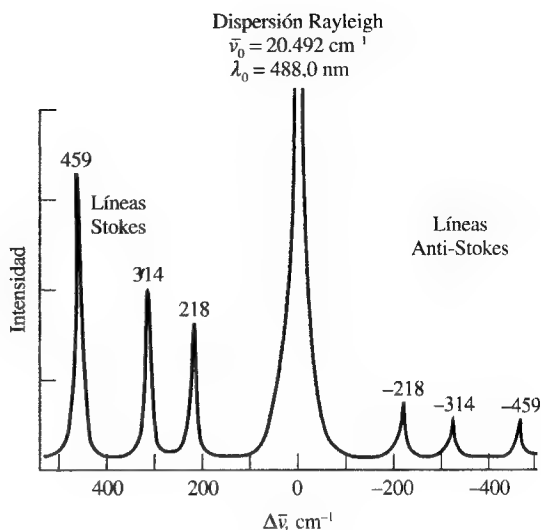


Figura 18-1. Espectro Raman del CCl_4 excitado con una radiación láser de $\lambda_0 = 488\text{ nm}$ o $\bar{\nu}_0 = 20.492\text{ cm}^{-1}$. El número que aparece sobre los picos es el desplazamiento Raman, $\Delta\bar{\nu} = (\bar{\nu}_i - \bar{\nu}_0)$. (Reproducido con autorización de D. P. Strommen y K. Nakamoto, Amer. Lab., 1981, 43, (10), 72. Copyright de 1981 de International Scientific Communications, Inc.)

co en ambos lados. Es decir, las líneas Stokes se encuentran a unos números de onda inferiores al del pico Rayleigh en 218, 314 y 459 cm^{-1} , mientras que los picos anti-Stokes aparecen a números de onda superiores al de la fuente en 218, 314 y 459 cm^{-1} . Se debería subrayar que también se pueden encontrar líneas adicionales a ± 762 y $\pm 790\text{ cm}^{-1}$. Es bastante general que las líneas anti-Stokes sean apreciablemente menos intensas que las correspondientes líneas Stokes. Por esta razón sólo se suele utilizar la parte Stokes del espectro. Además, en la abscisa del espectro se indica, a menudo, simplemente la frecuencia en cm^{-1} en lugar del número de onda del desplazamiento $\Delta\bar{\nu}$. Es notable cómo la fluorescencia puede interferir en la observación del desplazamiento Stokes pero no en el anti-Stokes. Por ello, en las muestras fluorescentes, las señales anti-Stokes pueden ser más útiles a pesar de su menor intensidad.

Es importante apreciar que la magnitud de los desplazamientos Raman es independiente de la longitud de onda de excitación. De este modo, se deben observar unos modelos de desplazamiento idénticos para el tetracloruro de carbono sin importar que la excitación se realice con un láser de criptón (488,0 nm), un láser de helio/neón (632,8 nm), o un láser de Nd:YAG (1.064 nm).

Superficialmente, la aparición de las líneas espectrales Raman a menores energías (longitudes de

onda más largas) es un fenómeno semejante al desplazamiento de Stokes que se observa en los experimentos de fluorescencia (página 144); por este motivo, los desplazamientos Raman a longitudes de onda más largas se denominan *desplazamiento de Stokes*. Sin embargo, como ya se verá, los espectros Raman y los de fluorescencia se producen a partir de procesos esencialmente distintos; por ello, no resulta muy afortunada la aplicación de la misma terminología a los espectros fluorescentes y Raman.

18A-2. Mecanismo de la dispersión Raman y Rayleigh

En la espectroscopia Raman, la excitación espectral se realiza, de ordinario, con radiación cuya lon-

gitud de onda está muy alejada de la de los picos de absorción del analito. El diagrama de niveles de energía de la Figura 18-2 proporciona una visión cualitativa del origen de la dispersión Raman y Rayleigh. La flecha gruesa de la izquierda representa el cambio de energía de la molécula cuando interacciona con un fotón de la fuente. El aumento de energía es igual a la energía del fotón $h\nu$. Es importante apreciar que el proceso indicado *no está cuantizado*; y, por tanto, en función de la frecuencia de la radiación de la fuente, la energía de la molécula puede tomar cualquiera de los infinitos valores o *estados virtuales* entre el estado fundamental y el primer estado electrónico excitado que se muestra en la parte superior del diagrama. La segunda flecha, más fina, muestra el tipo de cambio que ocurriría si la molécula alcanzada por el fotón estuviera en el primer nivel vibracional del

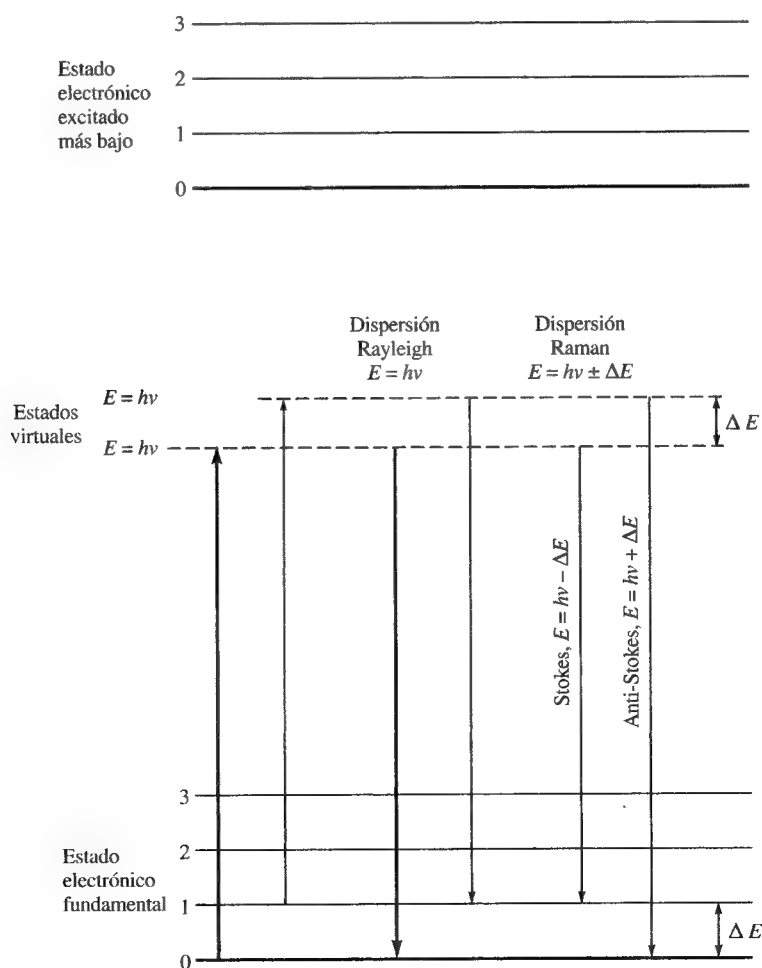


Figura 18-2. Origen de la dispersión Rayleigh y Raman.

estado electrónico fundamental. A temperatura ambiente, la fracción de moléculas que se encuentran en este estado es pequeño. De este modo, como se indica por la anchura de las flechas, la probabilidad de que ocurra este proceso es mucho menor.

Las flechas centrales representan los cambios que originan la dispersión Rayleigh. De nuevo, el cambio más probable se indica por una flecha más gruesa. Obsérvese que en la dispersión Rayleigh no se pierde energía. Como consecuencia, las colisiones que tienen lugar entre el fotón y la molécula se dice que son *elásticas*.

Por último, en la parte derecha se representan los cambios de energía que producen la emisión Stokes y la anti-Stokes. Las dos difieren de la radiación Rayleigh en la frecuencia correspondiente a $\pm\Delta E$, la energía del primer nivel vibracional del estado fundamental. Obsérvese que si el enlace fuera activo en el infrarrojo, la energía de su absorción sería también ΔE . Por tanto, el *desplazamiento de la frecuencia Raman* y la *frecuencia del pico* de absorción en el infrarrojo tienen la misma magnitud.

Obsérvese también que las poblaciones relativas de los dos estados de energía superiores son tales que la emisión Stokes está mucho más favorecida que la anti-Stokes. Además, es mucho más probable que ocurra la dispersión Rayleigh que la dispersión Raman debido a que el fenómeno más probable es la transferencia de energía a moléculas en el estado fundamental y la reemisión al retornar esas moléculas al estado fundamental. Por último, debe indicarse que la relación entre las intensidades anti-Stokes y Stokes aumenta con la temperatura porque, en estas circunstancias, es mayor la fracción de moléculas en el primer estado excitado vibracional.

18A-3. Modelo ondulatorio de la dispersión Raman y Rayleigh

Se considera un haz de radiación con una frecuencia ν_{ex} , que incide sobre una disolución de un analito. El campo eléctrico de esta radiación se puede describir por la ecuación

$$E = E_0 \cos(2\pi\nu_{\text{ex}}t) \quad (18-1)$$

donde E_0 es la amplitud de la onda. Cuando el campo eléctrico de la radiación interacciona con la nube electrónica de un enlace del analito, induce

un momento dipolar m en el enlace, que viene dado por

$$m = \alpha E = \alpha E_0 \cos(2\pi\nu_{\text{ex}}t) \quad (18-2)$$

donde α es una constante de proporcionalidad que se denomina *polarizabilidad* del enlace. Esta constante es una medida de la deformabilidad del enlace cuando se encuentra en un campo eléctrico.

Para que un enlace sea Raman activo, la polarizabilidad α del enlace ha de variar en función de la distancia entre los núcleos, de acuerdo con la ecuación

$$\alpha = \alpha_0 + (r - r_{\text{eq}}) \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) \quad (18-3)$$

donde α_0 es la polarizabilidad del enlace a una distancia internuclear de equilibrio r_{eq} y r es la separación internuclear en un instante dado. El cambio en la separación internuclear varía con la frecuencia de la vibración ν_v , según

$$r - r_{\text{eq}} = r_m \cos(2\pi\nu_v t) \quad (18-4)$$

donde r_m es la separación internuclear máxima en relación con la posición de equilibrio. Sustituyendo la Ecuación 18-4 en la 18-3 se obtiene

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) r_m \cos(2\pi\nu_v t) \quad (18-5)$$

Sustituyendo la Ecuación 18-5 en la Ecuación 18-2, se puede obtener una expresión para el momento dipolar inducido m . De esta forma,

$$m = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_{\text{ex}}t) + E_0 r_m \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) \cos(2\pi\nu_v t) \cos(2\pi\nu_{\text{ex}}t) \quad (18-6)$$

Recuérdese de trigonometría que

$$\cos x \cos y = [\cos(x + y) + \cos(x - y)]/2$$

Aplicando esta igualdad en la Ecuación 18-6 se obtiene

$$m = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_{\text{ex}}t) + \frac{E_0 r_m}{2} \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) \cos[2\pi(\nu_{\text{ex}} - \nu_v)t] + \frac{E_0 r_m}{2} \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) \cos[2\pi(\nu_{\text{ex}} + \nu_v)t] \quad (18-7)$$

El primer término en esta ecuación representa la dispersión Rayleigh, que tiene lugar a una frecuencia de excitación ν_{ex} . El segundo y el tercer términos de la Ecuación 18-7 corresponden a las frecuencias Stokes y anti-Stokes de $\nu_{\text{ex}} - \nu_v$ y de $\nu_{\text{ex}} + \nu_v$, respectivamente. En este caso, la frecuencia de excitación ha sido modulada por la frecuencia vibracional del enlace. Es importante resaltar que la dispersión Raman *requiere* que la polarizabilidad de un enlace varíe en función de la distancia, es decir, para que aparezca una línea Raman, $\partial\alpha/\partial r$, en la Ecuación 18-7, ha de ser mayor que cero.

Se ha subrayado que, para un enlace determinado, el *desplazamiento* de energía observado en un experimento Raman debería ser idéntico a la *energía* de su banda de absorción en el infrarrojo, siempre que los modos de vibración implicados sean activos tanto en la absorción en el infrarrojo como en la dispersión Raman. La Figura 18-3 ilustra la semejanza de los dos tipos de espectros; se puede comprobar que existen varios picos con un valor idéntico de $\bar{\nu}$ y $\Delta\bar{\nu}$ en los dos compuestos. Sin embargo, también hay que destacar, que el tamaño relativo de los picos correspondientes es, a

menudo, bastante distinto y, además, ciertos picos que se dan en uno de los espectros están ausentes en el otro.

No es sorprendente encontrar diferencias entre un espectro Raman y uno infrarrojo si se considera que los mecanismos básicos, aunque dependen de los mismos modos vibracionales, surgen de procesos que son mecanísticamente diferentes. La absorción en el infrarrojo requiere que un modo de vibración de la molécula experimente un cambio en el momento dipolar o en la distribución de carga asociada con él. Sólo entonces, la radiación de la misma frecuencia puede interaccionar con la molécula y promocionarla a un estado vibracional excitado. Por el contrario, la dispersión implica una distorsión momentánea de los electrones distribuidos alrededor de un enlace de la molécula, seguida por la reemisión de la radiación cuando el enlace vuelve a su estado normal. En su forma distorsionada la molécula está temporalmente polarizada; es decir, desarrolla momentáneamente un dipolo inducido que desaparece cuando se produce la relajación y reemisión. Debido a esta diferencia fundamental en el mecanismo, la actividad Raman de un modo vibracional determinado puede diferir mar-

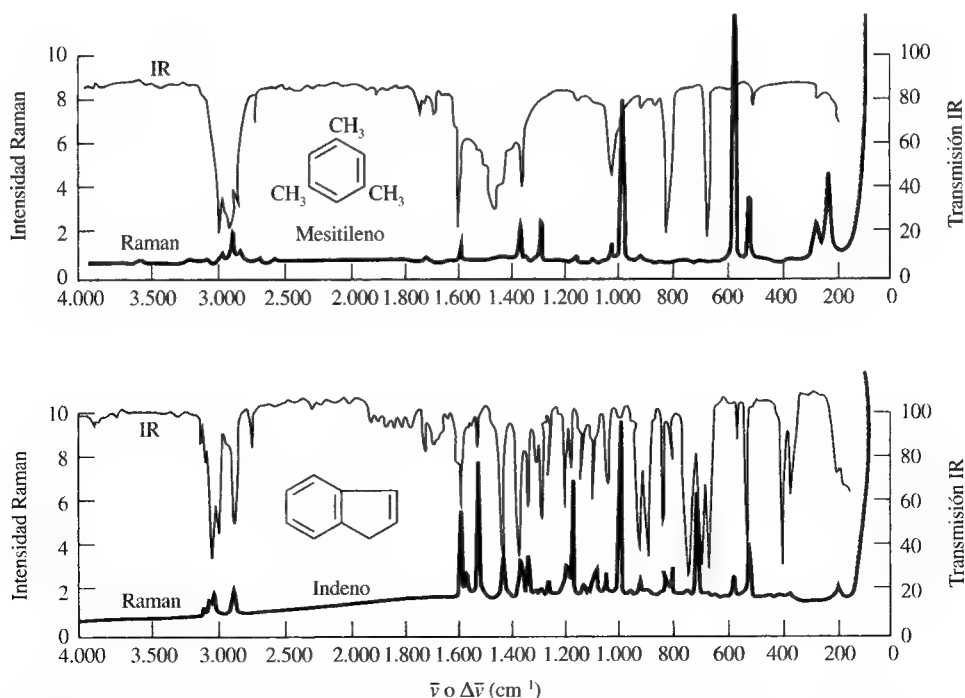


Figura 18-3. Comparación de espectros Raman e infrarrojo. (Cortesía de Perkin-Elmer Corp., Norwalk, CT.)

cadamente de su actividad en el infrarrojo. Por ejemplo, una molécula homonuclear como el nitrógeno, el cloro o el hidrógeno, no tiene momento dipolar ni en la posición de equilibrio ni cuando la vibración de tensión hace que cambie la distancia entre los dos núcleos. Así, no puede haber absorción de la radiación con frecuencia igual a la de vibración. Por otra parte, la polarizabilidad del enlace entre los dos átomos de estas moléculas varía periódicamente en fase con las vibraciones de tensión, llegando al máximo cuando la separación es máxima, y al mínimo cuando el acercamiento es el mayor posible. Por ello, se obtiene un desplazamiento Raman cuya frecuencia corresponde a la del modo vibracional.

Es interesante comparar las actividades en el infrarrojo y Raman de modos vibracionales acoplados tales como los descritos anteriormente (página 363) para la molécula de dióxido de carbono. En el modo simétrico, no ocurre ningún cambio en el momento dipolar cuando los dos átomos de oxígeno se aproximan al átomo de carbono central o se alejan de él y, por tanto, este modo de vibración es inactivo en el infrarrojo. Sin embargo, la polarizabilidad oscila en fase con la vibración, porque la distorsión de los enlaces es más fácil cuando se alargan, y es más difícil cuando se acortan. Este modo de vibración sí lleva asociada la actividad Raman.

Por el contrario, el momento dipolar del dióxido de carbono fluctúa en fase con el modo de vibración asimétrico. Por ello, se produce un pico de absorción en el infrarrojo cuyo origen es este modo de vibración.

Por otra parte, mientras que la polarizabilidad de uno de los enlaces aumenta al alargarse, la polarizabilidad del otro disminuye dando como resultado un cambio neto nulo en la polarizabilidad. Por ello, la vibración de tensión asimétrica no tiene actividad Raman.

Con frecuencia, como en los ejemplos anteriores, partes de los espectros Raman e infrarrojo son complementarias, asociándose cada una con un conjunto distinto de modos de vibración dentro de una molécula. En otros casos, los modos de vibración pueden ser activos tanto en Raman como en el infrarrojo. Por ejemplo, todos los modos de vibración del dióxido de azufre producen picos Raman y en el infrarrojo. Sin embargo, el tamaño de los picos difiere debido a que la probabilidad de las transiciones es distinta para los dos mecanismos.

18A-4. Intensidad de los picos Raman normales

La intensidad o potencia de un pico Raman normal depende de forma compleja de la polarizabilidad de la molécula, de la intensidad de la fuente y de la concentración del grupo activo, además de otros factores. En ausencia de absorción, la potencia de la emisión Raman aumenta con la cuarta potencia de la frecuencia de la fuente; sin embargo, pocas veces puede aprovecharse esta ventaja debido a la probabilidad de que la radiación ultravioleta origine una fotodescomposición.

Las intensidades Raman, por lo general, son directamente proporcionales a la concentración de la especie activa. Desde este punto de vista, la espectroscopia Raman se parece más a la fluorescencia que a la absorción, donde la relación entre la intensidad y la concentración es logarítmica.

18A-5. Relación de despolarización Raman²

Las medidas Raman proporcionan, además de la información relacionada con la frecuencia y la intensidad, una variable adicional que a veces es útil en la determinación de estructuras moleculares, y que se denomina *relación de despolarización*. En este caso, es importante distinguir cuidadosamente entre los términos de *polarizabilidad* y *polarización*. El primer término describe una propiedad *molecular* que tiene que ver con la deformabilidad de un enlace. En cambio, la polarización es una propiedad del haz de radiación y describe el plano en el que vibra.

Si para obtener los espectros Raman se utiliza una radiación de excitación polarizada en un plano, como ocurre cuando se utiliza una fuente láser, se observa que la radiación dispersada está polarizada en distintos grados dependiendo del tipo de vibración responsable de la dispersión. La naturaleza de este efecto se ilustra en la Figura 18-4 donde la radiación de una fuente láser está polarizada en el plano yz. Parte de la radiación dispersada resultante está polarizada paralelamente al haz original, es decir, en el plano xz; la intensidad de esta radiación se simboliza por el subíndice $\parallel$. El resto del haz dispersado está polarizado en el plano xy, que es perpendicular a la polarización del haz original; la

² D. P. Strommer, *J. Chem. Educ.*, **1992**, 69, 803.

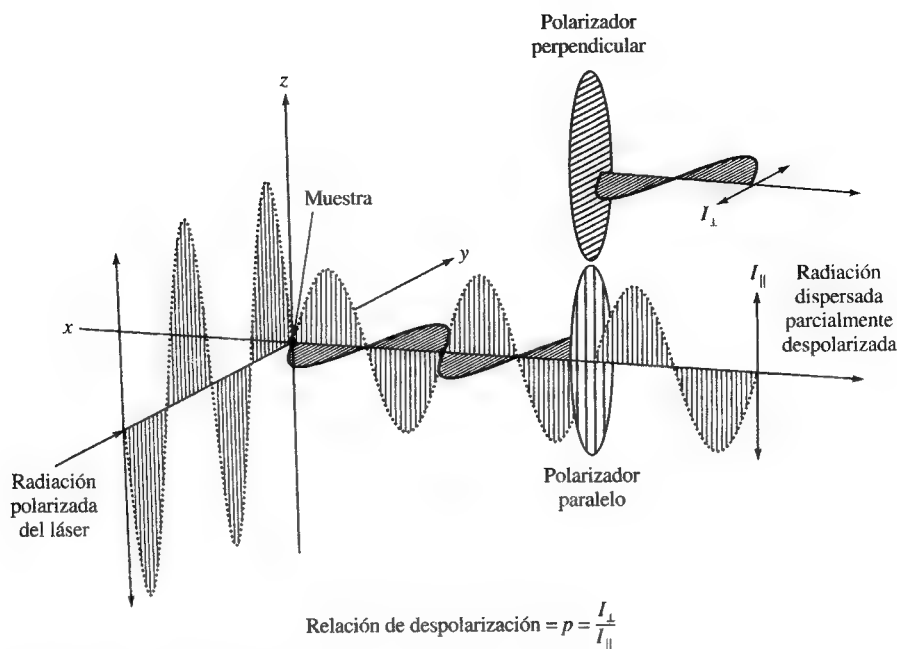


Figura 18-4. Despolarización resultante de la dispersión Raman.

intensidad de esta radiación, polarizada perpendicularmente, se indica con el subíndice $\perp$. La relación de despolarización p se define como

$$p = \frac{I_{\perp}}{I_{\parallel}} \quad (18-8)$$

Experimentalmente, la relación de despolarización se obtiene insertando una lámina Polaroid u otro polarizador entre la muestra y el monocromador. Los espectros se obtienen con el eje de la lámina orientado paralelamente, primero al plano xz y luego al plano xy , tal como se indica en la Figura 18-4.

La relación de despolarización depende de la simetría de las vibraciones responsables de la dispersión. Por ejemplo, el pico del tetracloruro de carbono a 459 cm^{-1} (Fig. 18-1) proviene de una vibración de respiración totalmente simétrica que implica el movimiento simultáneo de los cuatro átomos de cloro dispuestos tetraédricamente bien hacia el átomo de carbono central, o bien alejándose de él. La relación de despolarización es 0,005, lo que indica una despolarización mínima, por ello, se dice que la línea a 459 cm^{-1} está *polarizada*. Por el contrario, los picos del tetracloruro de carbono a 218 y 314 cm^{-1} , que provienen de vibraciones no simétricas, presentan unas relaciones de despolarización de aproximadamente 0,75. A partir de la teoría de la dispersión es posible demostrar que la despolarización máxima para las vibraciones no simétricas es de $6/7$, mientras que para las vibraciones simétricas, la relación es siempre menor. Por tanto, la razón de despolarización es útil para correlacionar las líneas Raman con los modos de vibración.

zación de aproximadamente 0,75. A partir de la teoría de la dispersión es posible demostrar que la despolarización máxima para las vibraciones no simétricas es de $6/7$, mientras que para las vibraciones simétricas, la relación es siempre menor. Por tanto, la razón de despolarización es útil para correlacionar las líneas Raman con los modos de vibración.

18B. INSTRUMENTACIÓN

Los instrumentos para la espectroscopia Raman moderna constan de tres componentes: una fuente láser, un sistema de iluminación de la muestra y un espectrómetro adecuado. Sin embargo, los requerimientos de funcionamiento de estos componentes son más rigurosos que los mostrados por los espectrómetros empleados en las técnicas moleculares ya descritos, debido a la inherente debilidad de la señal de dispersión Raman comparada con la señal producida por la dispersión Rayleigh.

18B-1. Fuentes

Las fuentes utilizadas en la espectrometría Raman moderna son casi siempre láseres debido a su alta

intensidad, necesaria para producir dispersión Raman lo suficientemente intensa como para poderse medir con una relación señal/ruido razonable. En la Tabla 18-1 se enumeran cinco de los láseres más utilizados en la espectroscopia Raman. Debido a que la intensidad de la dispersión Raman varía con la cuarta potencia de la frecuencia, las fuentes de ion argón y criptón, que emiten en la región azul y verde del espectro, presentan esta ventaja sobre las otras fuentes mostradas en la tabla. Por ejemplo, la línea del argón a 488 nm proporciona líneas Raman casi tres veces más intensas que las excitadas mediante la fuente helio/neón, para la misma potencia de entrada.

Las dos últimas fuentes de la tabla, que emiten radiación del infrarrojo cercano, se usan cada vez más como fuentes de excitación. Las fuentes del infrarrojo cercano presentan dos ventajas importantes sobre los láseres de longitud de onda más corta. La primera es que pueden funcionar a potencias muy superiores (hasta 50 W), sin producir fotodescomposición de la muestra. La segunda es que no son lo suficientemente energéticas para poblar, en la mayoría de las moléculas, un número significativo de estados electrónicos excitados capaces de producir fluorescencia. Como consecuencia, con estos láseres, la fluorescencia es, en general, mucho menos intensa o inexistente. La línea a 1.064 nm de Nd/YAG es particularmente efectiva para eliminar la fluorescencia. Las dos líneas del láser de diodos en serie a 782 y 830 nm también reducen notablemente la fluorescencia en la mayoría de los casos.

En la Figura 18-5 se ilustra un ejemplo donde la fuente Nd/YAG elimina por completo la fluorescencia de fondo. La curva superior se obtuvo con un equipo Raman convencional utilizando para la excitación la línea a 514,5 nm del láser de ion argón. Se trata de una muestra de antraceno, y la mayoría de la señal registrada procede de la fluorescencia del compuesto. La curva inferior proce-

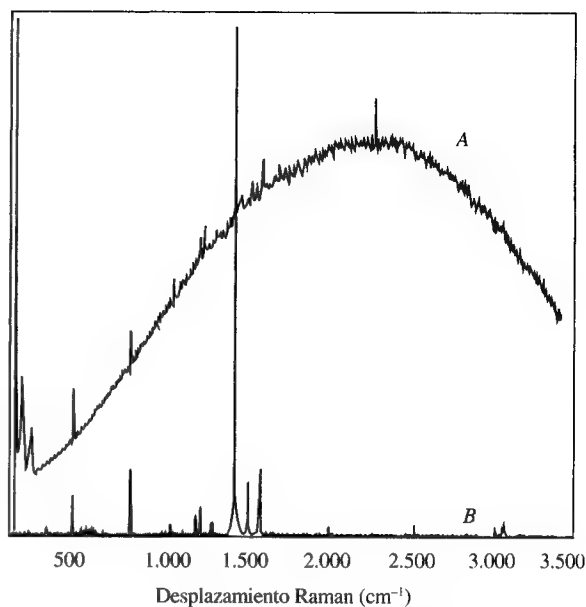


Figura 18-5. Espectros del antraceno. A: Instrumento convencional, excitación a 5.145 Å. B: Instrumento de transformada de Fourier, excitación a 1.064 μm. (Con autorización de B. Chase, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 888A. Copyright 1987 American Chemical Society.)

de de la misma muestra registrada con un espectrómetro de transformada de Fourier equipado con un láser de Nd/YAG que emite a 1.064 nm. Obsérvese la ausencia total de fluorescencia en la señal fondo.

Se puede disponer de diversas fuentes láser; e indudablemente, en el futuro aparecerán otras nuevas y mejoradas. Es necesario disponer de varias fuentes porque hay que elegir una con la que no absorba la muestra (excepto para las medidas de Raman de resonancia), o el disolvente.

18B-2. Sistemas de iluminación de la muestra

La manipulación de las muestras en espectroscopia Raman es más sencilla que en espectroscopia en el infrarrojo, debido a que puede emplearse el vidrio para las ventanas, lentes y otros componentes ópticos, en lugar de los haluros cristalinos que resultan más frágiles y menos estables a los componentes atmosféricos. Además, la fuente láser se puede enfocar con facilidad sobre una zona pequeña de la muestra y, a su vez, la radiación emitida enfocarla eficazmente sobre una rendija. En consecuencia, se

TABLA 18-1. Algunas fuentes láser comunes en espectroscopia Raman

Tipo de fuente	Longitud de onda, nm
Ion argón	488,0 o 514,5
Ion criptón	530,9 o 647,1
Helio/neón	632,8
Láser de diodos	782 o 830
Nd/YAG	1.064

pueden examinar muestras muy pequeñas. De hecho, un recipiente que se utiliza normalmente para muestras líquidas no absorbentes, es un capilar como el que se emplea normalmente para medir el punto de fusión.

Muestras líquidas

En la Figura 18-6 se muestran dos de las muchas configuraciones posibles para trabajar con muestras líquidas. Cada una contiene un filtro de interferencia de paso de banda estrecho que transmite una única señal de la fuente láser y elimina (>99,9 por 100) las otras líneas. En la Figura 18-6b se ha aumentado el tamaño del tubo para mostrar los detalles de la reflexión de la radiación Raman en las paredes; de hecho, el recipiente para la muestra es un capilar de vidrio de 1 mm de diámetro externo y de unos 5 cm de largo.

La mayor ventaja en cuanto a la manipulación de la muestra en espectroscopia Raman comparada

con la de infrarrojo se debe a la débil dispersión Raman producida por el agua, que, sin embargo, absorbe fuertemente la radiación del infrarrojo. Por ello, las disoluciones acuosas se pueden estudiar por espectroscopia Raman pero no por infrarrojo. Esta ventaja es particularmente importante para los sistemas biológicos e inorgánicos y para los estudios relacionados con los problemas de polución de agua.

Muestras sólidas

Los espectros Raman de muestras sólidas se obtienen, a menudo, llenando una pequeña cavidad con la muestra finamente pulverizada. Los polímeros, por lo general, se pueden examinar directamente sin tratamiento previo de la muestra. En el caso poco común de dispersores débiles, como sucede con las muestras de gases diluidos, la cubeta se coloca, a veces, entre los espejos de la fuente láser, lo que da lugar a un aumento de la potencia de excita-

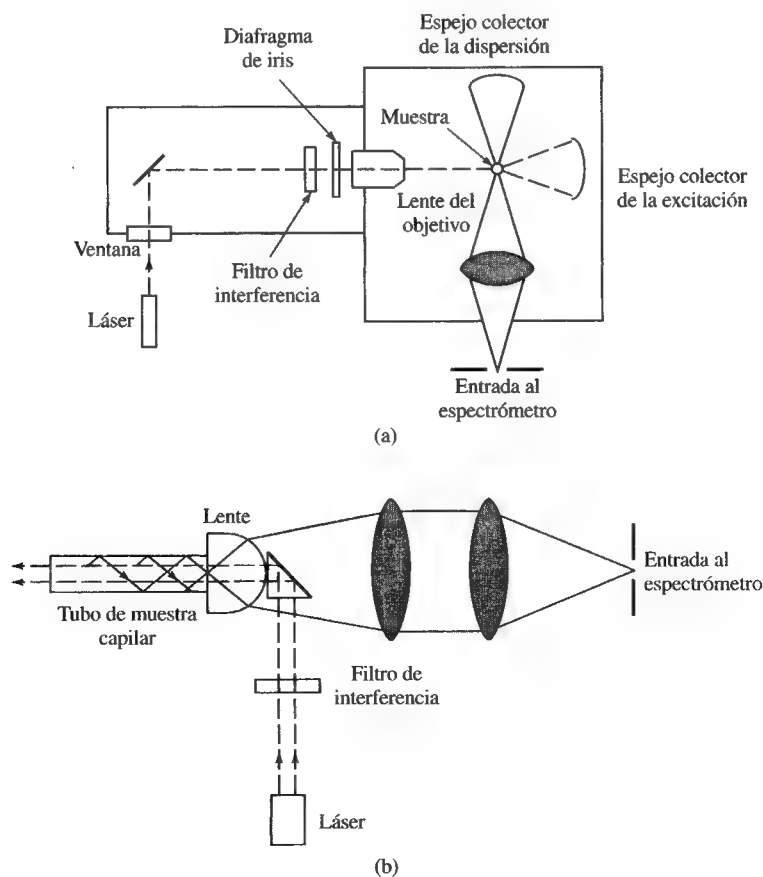


Figura 18-6. Dos sistemas de excitación de la muestra.

ción. Otro medio para producir espectros Raman de muestras gaseosas consiste en el uso de cubetas de paso múltiple. La muestra gaseosa se introduce en un tubo de vidrio cilíndrico con espejos en ambos extremos. El haz láser de excitación pasa a través de una pequeña ventana en uno de los espejos y posteriormente para a través de la muestra gaseosa numerosas veces. La dispersión Raman resultante, perpendicular al tubo de la muestra y al haz láser de excitación, se focaliza después sobre la rendija de entrada de un espectrómetro mediante una gran lente.

Muestreo con fibra óptica

Una de las ventajas importantes de la espectrometría Raman es que utiliza radiación visible o del infrarrojo cercano que puede transmitirse a lo largo de una distancia considerable (tanto como 100 m o más) a través de una fibra óptica. La Figura 18-7a muestra el esquema de un instrumento característico para el muestreo con una sonda de fibra óptica. En este caso, se utiliza una lente objetivo microscópica para enfocar el haz de excitación láser sobre uno de los extremos del conjunto de fibras de entrada que llevan la radiación a una sonda de fibra óptica que esta inmersa en la muestra. Como se ve en la Figura 18-7b, la sonda consta de fibras de entrada rodeadas de varias fibras de recogida que transportan la radiación dispersada al monocromador. A la entrada del espectrómetro las fibras de recogida se disponen de forma lineal como aparece en la Figura 18-7c para que iluminen la rendija de entrada.

La Figura 18-8 ilustra cómo las sondas de fibra óptica se pueden utilizar para obtener espectros directamente, bajo condiciones de muestreo relativamente adversas. En este caso, la sonda encerrada en una funda de vidrio protector, se introdujo directamente en una muestra de polietileno molido.

18B-3. Espectrómetros Raman

Hasta comienzos de los años ochenta, los espectrofotómetros Raman tenían diseños semejantes y utilizaban el mismo tipo de componentes que los instrumentos dispersivos ultravioleta/visible clásicos descritos en el Apartado 13D-3. La mayoría empleaban sistemas de doble red para minimizar la radiación no deseable que llega al detector. Como detectores se utilizaban fotomultiplicadores. Sin

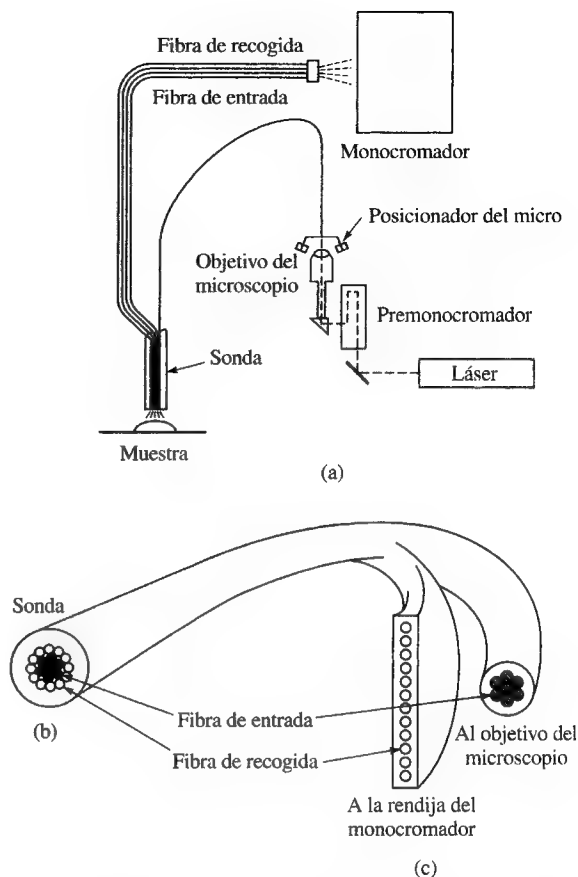


Figura 18-7. (a) Esquema de un sistema para la obtención de espectros Raman con una sonda de fibra óptica; (b) vista del extremo final de la sonda; (c) vista del extremo de las fibras de recogida en la rendija de entrada del monocromador. Los círculos oscurecidos representan la fibra de entrada y los círculos blancos las fibras de recogida. (Adaptado de R. L. McCreery, M. Fleischmann, y P. Hendra, *Anal. Chem.*, 1983, 55, 146. Con autorización.)

embargo, en la actualidad, la mayoría de los espectrómetros Raman que se comercializan son instrumentos de transformada de Fourier con detectores de germanio enfriados o instrumentos multicanal con dispositivos de acoplamiento de carga. Estos detectores, a diferencia de los tubos fotomultiplicadores son sensibles a la radiación de 782 nm producida por los láseres de diodo, los cuales provocan la excitación Raman de muchos compuestos sin generar una fluorescencia apreciable. Desafortunadamente, los dispositivos de acoplamiento de carga no son sensibles a la radiación de 1.064 nm procedente del láser Nd/YAG.

Actualmente, existe una controversia en la literatura acerca de cuál de los instrumentos Raman es

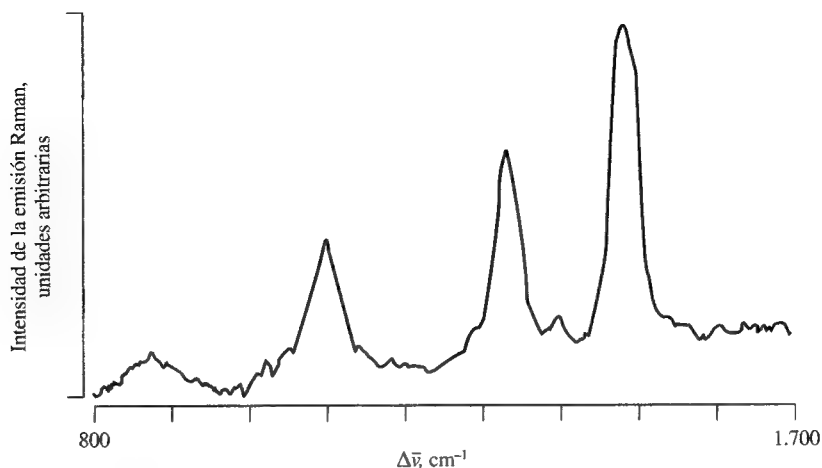


Figura 18-8. Espectro de polietileno fundido obtenido mediante una sonda de fibra óptica insertada en el fundido del polímero. (Con autorización de R. L. McCreery, M. Fleischmann, y P. Hendra, *Anal. Chem.*, **1983**, *55*, 146.)

el mejor para las medidas de muestras fluorescentes: instrumentos de transformada de Fourier o instrumentos dispersivos con detectores de acoplamiento de carga. En este punto, no está claro cuál de estos tipos de instrumentos será el más aceptado en el futuro.

La Figura 18-9 muestra el esquema de un instrumento de transformada de Fourier para las medidas Raman. El interferómetro es del mismo tipo que el usado en los instrumentos de infrarrojo. El

detector es un fotoconductor de germanio enfriado con nitrógeno líquido. Dado que la intensidad de la línea Rayleigh es varios órdenes de magnitud mayor que la línea Raman, en estos instrumentos se emplean, por lo general, filtros de interferencia holográficos llamados *filtros de corte* o un monocromador para limitar la radiación que llega al detector de longitudes de onda superiores a las generadas por la fuente. Con esta disposición, sólo se detecta la parte Stokes del espectro. Algunos instrumentos de

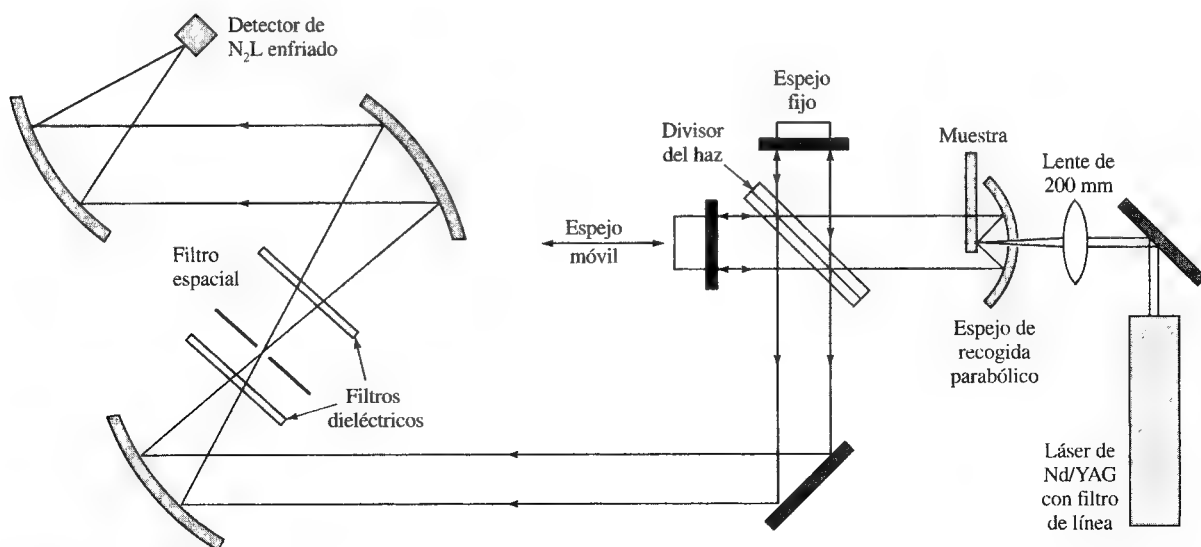


Figura 18-9. Esquema de la óptica de un espectrómetro Raman-FT (N_2L = nitrógeno líquido) (Con autorización de B. Chase, *Anal. Chem.*, **1987**, *59*, 884A.)

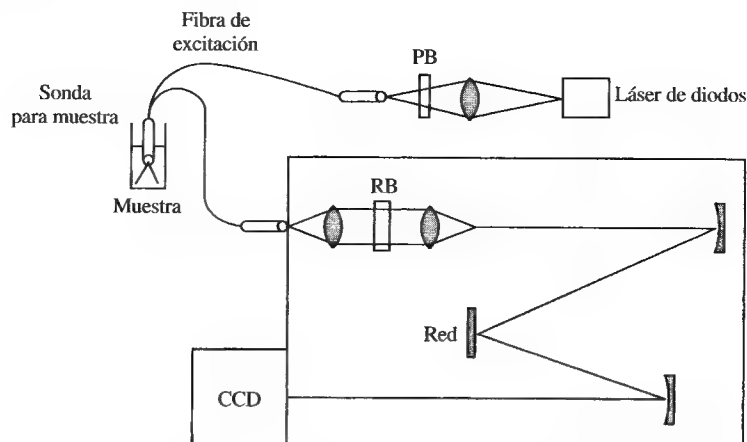


Figura 18-10. Espectrómetro Raman dispersivo multicanal con un dispositivo de acoplamiento de carga (CCD). PB es un filtro de interferencia de paso de banda; RB es un filtro de rechazo de la banda Rayleigh. (Adaptado de C. D. Newman, G. C. Bret y R. L. McCreery, *Appl. Spectros.*, 1992, 46, 263. Con autorización.)

transformada de Fourier utilizan filtros diseñados para eliminar sólo la longitud de onda de la fuente láser. Independientemente del sistema de filtro que se utilice, la pendiente del perfil de transmitancia del filtro limita las menores frecuencias que puedan observarse.

La Figura 18-10 muestra un esquema de un espectrómetro de dispersión Raman característico con un detector de acoplamiento de carga. La fuente es un láser de diodos y el sistema de filtros selecciona la radiación de 783 nm. El haz se enfoca sobre el extremo de la fibra de excitación por medio de una lente y se transmite a la sonda de fibra que consta de una fibra de excitación rodeada de 19 fibras de recogida. Las últimas transportan la emisión Raman a la rendija del monocromador donde atraviesa un filtro que elimina la radiación de dispersión Rayleigh. Una red de difracción que contiene 600 surcos/mm dispersa la radiación y la refleja sobre el dispositivo de acoplamiento de carga fabricado con 258 por 1.152 pixels. Cada uno de los 258 pixels verticales se suman antes de su lectura.

La Figura 18-11 muestra alguna aplicación característica de los espectrómetros dispersivos con una sonda de fibra óptica. Para obtener los dos espectros superiores, la sonda se sumergió directamente en las muestras puras. Los dos espectros inferiores se obtuvieron colocando la sonda a aproximadamente 3 mm por encima de las muestras sólidas. Téngase en cuenta que la rodamina 6G es fuertemente fluorescente, lo que dificulta en extremo la obtención del espectro Raman con radiación

visible. El problema se resolvió utilizando la radiación de 783 nm del láser de diodos.

18C. APLICACIONES DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN

La espectroscopia Raman se ha aplicado al análisis cualitativo y cuantitativo de sistemas inorgánicos, orgánicos y biológicos³.

18C-1. Espectros Raman de especies inorgánicas⁴

La técnica Raman suele ser superior a la de infrarrojo para la investigación espectroscópica de sistemas inorgánicos, debido a que se pueden utilizar disoluciones acuosas. Además, las energías vibracionales de los enlaces metal-ligando, se encuentran por lo general, entre 100 y 700 cm^{-1} , una región del infrarrojo que es difícil de estudiar experimentalmente. Sin embargo, estas vibraciones son a menudo activas en Raman, y fácilmente se observan picos con valores de $\Delta\bar{\nu}$ en este intervalo. Los espectros Raman, son fuentes de información potencialmente útiles respecto a la composición, estructura y esta-

³ Véase *Analytical Raman Spectroscopy*, J. G. Grasselli y B. J. Bulkin, Eds. New York: Wiley, 1991.

⁴ Véase K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, 5.ª ed. New York: Wiley, 1996.

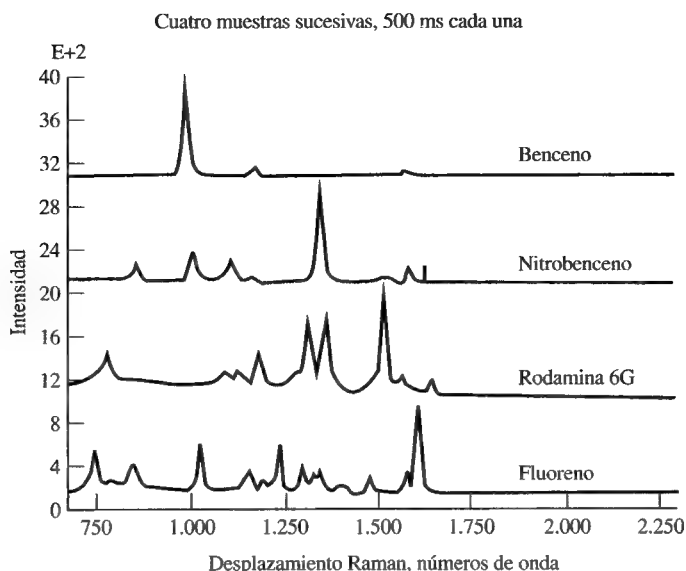


Figura 18-11. Cuatro espectros Raman obtenidos con el instrumento mostrado en la Figura 18-10. (Adaptado de C. D. Newman, G. C. Bret y R. L. McCreery, *Appl. Spectros.*, **1992**, 46, 263. Con autorización.)

bilidad de los compuestos de coordinación. Por ejemplo, numerosos complejos de halógenos y halogenoides presentan espectros Raman y de este modo pueden investigarse. Los enlaces metal-oxígeno también son activos en Raman. Se han obtenido los espectros Raman de especies como VO_4^{3-} , $\text{Al}(\text{OH})_4^-$, $\text{Si}(\text{OH})_6^{2-}$ y $\text{Sn}(\text{OH})_6^{2-}$; los estudios Raman han sido útiles en la determinación de las probables estructuras de dichas especies. Por ejemplo, el vanadio(IV) en disoluciones de ácido perclórico, parece estar presente como VO^{2+} (ac) y no como $\text{V}(\text{OH})_2^{2+}$ (ac). Los estudios de las disoluciones de ácido bórico indican que el anión formado por la disociación del ácido es el ion tetraédrico $\text{B}(\text{OH})_4^-$ y no el H_2BO_3^- . Se han calculado las constantes de disociación de ácidos fuertes como el H_2SO_4 , HNO_3 , H_2SeO_4 y H_5IO_6 , a partir de medidas realizadas mediante espectroscopia Raman. Parece probable que, en el futuro, la espectroscopia Raman tendrá una mayor utilización en el estudio teórico y estructural de los sistemas inorgánicos.

18C-2. Espectros Raman de especies orgánicas

Los espectros Raman son semejantes a los espectros de infrarrojo, en cuanto a que presentan regio-

nes útiles para la detección de grupos funcionales y regiones de «huella dactilar» que permiten la identificación de compuestos específicos. Daimay y col. han publicado una revisión muy completa de las frecuencias Raman de grupos funcionales⁵.

Los espectros Raman proporcionan más información acerca de ciertos tipos de compuestos orgánicos que los correspondientes espectros de infrarrojo. Por ejemplo, la vibración de tensión del doble enlace en las olefinas, produce una absorción débil en el infrarrojo y, a veces, no se puede detectar. Por otra parte, la banda Raman (que, como la banda en el infrarrojo, se presenta aproximadamente a 1.600 cm^{-1}) es intensa, y su posición depende de la naturaleza de los sustituyentes y de su geometría. En consecuencia, los estudios de espectroscopia Raman son apropiados para proporcionar información útil acerca de los grupos funcionales olefínicos, los cuales no se pueden manifestar en los espectros de infrarrojo. Lo mismo ocurre con los derivados cicloparafínicos; estos compuestos tienen un pico Raman característico en la región de $700\text{ a }1.200\text{ cm}^{-1}$. Este pico se atribuye a una vibración de respiración en la que los núcleos se mueven

⁵ L. Daimay, N. B. Colthup, W. G. Fatel y J. G. Grasselli, *The Handbook of Infrared & Raman Characteristic Frequencies of Organic Compounds*. New York: Wiley-Interscience, 1971.

hacia dentro y hacia fuera simétricamente con respecto al centro del anillo. La posición del pico disminuye de forma continua desde 1.190 cm^{-1} para el ciclopropano hasta 700 cm^{-1} para el ciclooctano; por tanto, la espectroscopia Raman constituye una excelente herramienta para la estimación del tamaño del anillo en las parafinas cíclicas. El pico infrarrojo asociado con esta vibración es débil o no existente.

18C-3. Aplicaciones biológicas de la espectroscopia Raman

La espectroscopia Raman se ha aplicado ampliamente para el estudio de sistemas biológicos⁶. Entre las ventajas de esta técnica se incluyen el pequeño tamaño de muestra requerido, la mínima interferencia del agua, el detalle espectral y la sensibilidad respecto a los factores conformacionales y del entorno.

18C-4. Aplicaciones cuantitativas

Los espectros Raman tienden a mostrar menos picos que los espectros de infrarrojo. Como consecuencia, es menos probable el solapamiento de los picos en las mezclas, y las medidas cuantitativas son más sencillas. Además, los compartimentos de la muestra en Raman no están sujetos al ataque de la humedad, y pequeñas cantidades de agua en una muestra no interfieren. A pesar de las ventajas, la espectroscopia Raman no ha sido todavía suficientemente explotada para el análisis cuantitativo. Esta falta de uso se ha debido, en gran parte, al elevado coste de los espectrómetros Raman en relación a la instrumentación de absorción. Es probable que este obstáculo se haga menos importante con la proliferación de láseres de diodos de bajo coste, adecuados para este fin.

Es posible realizar análisis cuantitativos de muestras muy pequeñas, debido a que los haces láser se pueden enfocar con mucha precisión. Para estos análisis se utilizan los instrumentos denomi-

nados *microsondas de láser*. Las microsondas de láser se han utilizado para determinar analitos en células bacterianas aisladas, componentes en partículas individuales de humo y cenizas en suspensión, y especies en inclusiones microscópicas en minerales.

18D. OTROS TIPOS DE ESPECTROSCOPIA RAMAN

Con el desarrollo de los láseres sintonizables, a principios de los setenta se desarrollaron varios métodos nuevos de espectroscopia Raman. A continuación se tratan brevemente las aplicaciones de algunas de estas técnicas.

18D-1. Espectroscopia Raman de resonancia⁷

La dispersión Raman de resonancia hace referencia a un fenómeno en el que las intensidades de las líneas Raman aumentan considerablemente por la excitación con longitudes de onda que se aproximan bastante a la del pico de absorción *electrónico* de un analito. Bajo estas circunstancias, las magnitudes de los picos Raman asociados con las vibraciones más simétricas aumentan por un factor de 10^2 a 10^6 . Como consecuencia, se han podido obtener espectros Raman de resonancia con concentraciones de analito tan bajas como 10^{-8} M. Estos niveles de sensibilidad contrastan con los estudios Raman normales, los cuales se limitan, de ordinario, a concentraciones mayores de 0,1 M. Debido a que el aumento de la resonancia se limita a las bandas Raman asociadas con el cromóforo, los espectros Raman de resonancia, por lo general, constan de pocas líneas. Además, los espectros Raman de resonancia se pueden obtener de forma bastante selectiva, ya que la excitación se puede dirigir hacia una banda de absorción específica.

La Figura 18-12a ilustra los cambios de energía responsables de la dispersión Raman de resonancia. Esta figura difiere del diagrama de energía correspondiente a la dispersión Raman normal (Figura 18-2) en que el electrón una vez promocionado

⁶ Para una revisión de las aplicaciones biológicas, véase P. R. Carey, *Biochemical Applications of Raman and Resonance Raman Spectroscopy*. New York: Academic Press, 1982; A. T. Tu, *Raman Spectroscopy in Biology*. New York: Wiley, 1982; I. W. Levin y E. N. Lewis, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 1101A; P. V. Huang, en *Analytical Raman Spectroscopy*, J. G. Grasselli y B. J. Bulkin, Eds., Capítulo 11. New York: Wiley, 1991.

⁷ Para una breve revisión de este tema, véase M. D. Morris y D. J. Wallan, *Anal. Chem.*, **1979**, 51, 182A; D. P. Strommen y K. Nakamoto, *J. Chem. Educ.*, **1977**, 54, 474; S. A. Asher, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 59A, 201A.

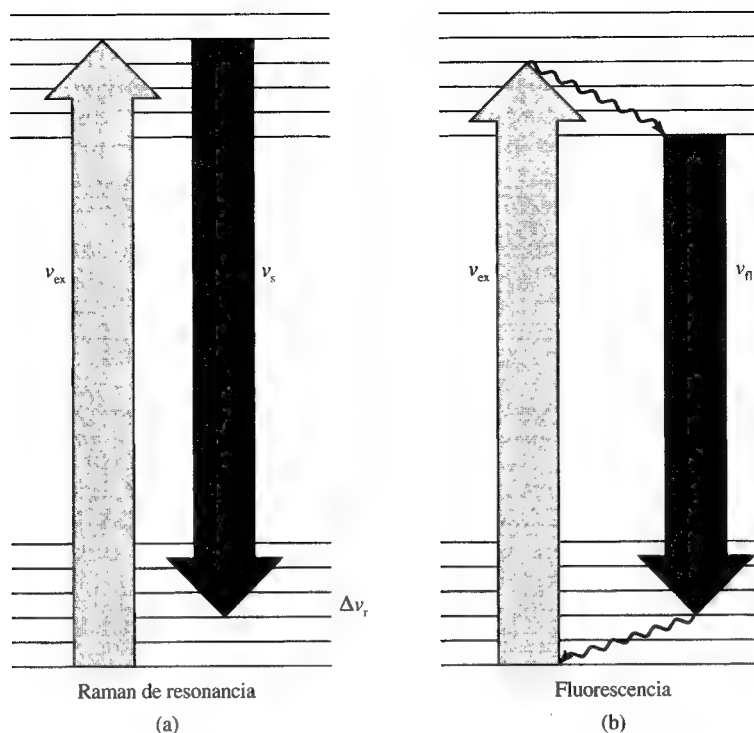


Figura 18-12. Diagrama de energías para (a) la dispersión Raman de resonancia y (b) la emisión fluorescente. La relajación no radiante se indica como flechas onduladas. (Reproducido con autorización de M. D. Morris y D. J. Wallin, *Anal. Chem.*, 1979, 51, 185A. Copyright 1979 American Chemical Society.)

a un estado electrónico excitado sufre una relajación inmediata a un nivel vibracional del estado electrónico fundamental. Como se muestra en la figura, la dispersión Raman de resonancia difiere de la fluorescencia (Fig. 18-12b) en que la relajación al estado fundamental *no está* precedida de una relajación al nivel vibracional más bajo del estado electrónico excitado. Las escalas de tiempo para los dos fenómenos son también bastante diferentes, la relajación Raman ocurre en menos de 10^{-14} s, en cambio la emisión fluorescente tiene lugar entre 10^{-6} y 10^{-8} s.

La intensidad de las líneas en un experimento Raman de resonancia aumenta rápidamente cuando la longitud de onda de excitación se aproxima a la longitud de onda del pico de absorción electrónica. Así, para conseguir el mayor incremento de señal en un intervalo ancho de máximos de absorción, se necesita un láser sintonizable. Con una radiación láser intensa, la descomposición de la muestra se puede convertir en un gran problema debido a que los picos de absorción electrónica, con frecuencia, se dan en la región ultravioleta. Ex-

presamente, la absorción intensa da lugar a un calentamiento local en la muestra que produce la descomposición del analito. Para evitar este problema, es una práctica normal desplazar la muestra de forma circular por delante del haz enfocado del láser. La circulación de la muestra se suele realizar de dos maneras: bombeando la disolución o el líquido a través de un capilar instalado en el compartimento de la muestra o girando una cubeta cilíndrica que contiene la muestra, a través del haz del láser. De este modo, sólo una pequeña fracción de la muestra se irradia en un instante dado, y así se minimizan el calentamiento y la descomposición de la muestra.

Tal vez la aplicación más importante de la espectroscopia Raman de resonancia ha sido el estudio de moléculas biológicas en unas condiciones fisiológicamente significativas, es decir, en presencia de agua y a unas concentraciones de bajas a moderadas. Por ejemplo, la técnica se ha utilizado para determinar el estado de oxidación y el espín de los átomos de hierro en la hemoglobina y el citocromo-c. En estas moléculas, las bandas Raman

de resonancia se deben únicamente a los modos de vibración del cromóforo tetrapirrol. Ninguna de las otras bandas asociadas con la proteína aumentan y, como consecuencia, estas bandas, a las concentraciones normalmente utilizadas, no interfieren.

La principal limitación de la espectroscopia Raman de resonancia radica en la interferencia causada por la fluorescencia del propio analito o de otras especies presentes en la muestra.

18D-2. Espectroscopia Raman de superficie aumentada⁸

La espectroscopia Raman de superficie aumentada supone la obtención de los espectros de la manera usual, de muestras que se adsorben sobre la superficie de partículas metálicas coloidales (normalmente plata, oro o cobre) o sobre superficies rugosas de piezas de estos metales. Por razones del todo no comprendidas, las líneas Raman de la molécula adsorbida a menudo se incrementan en un factor de 10^3 a 10^6 . Cuando el incremento de superficie se combina con la técnica de resonancia aumentada, tratada en el apartado anterior, el incremento neto de la intensidad de la señal es más o menos el producto de la intensidad producida por cada una de las técnicas. En consecuencia, se han llegado a conseguir límites de detección del orden de 10^{-9} a 10^{-12} M.

Se han utilizado varias técnicas para la manipulación de la muestra en la espectroscopia de superficie aumentada. En una de las técnicas, partículas de plata u oro coloidal se suspenden en una disolución diluida (normalmente acuosa) de la muestra. A continuación, la disolución se mantiene o se hace fluir a través de un tubo de vidrio estrecho mientras se excita con un haz láser. En otro de los métodos, se deposita una delgada película de partículas me-

tálicas coloidales sobre una placa de vidrio, y se añaden una o dos gotas de disolución de la muestra sobre la película. A continuación se obtiene el espectro Raman de la forma usual. Alternativamente, la muestra se puede depositar sobre un electrodo metálico rugoso, que a continuación se retira de la disolución y se expone a la fuente de excitación láser.

18D-3. Espectroscopia Raman no lineal⁹

En el Apartado 7B-3 se indicó que muchos láseres son bastante intensos para producir cantidades significativas de radiación no lineal. Durante los años setenta y ochenta se desarrollaron muchas técnicas Raman que dependen de la polarización inducida por intensidades de campo de segundo orden y de órdenes superiores. Estas técnicas se conocen como métodos Raman no lineales. Entre estos métodos se pueden incluir: *dispersión Raman estimulada*, *efecto hiper Raman*, *ganancia Raman estimulada*, *espectroscopia Raman inversa*, *espectroscopia Raman Stokes coherente* y *espectroscopia Raman anti-Stokes coherente*. El más utilizado de estos métodos es la espectroscopia Raman anti-Stokes coherente o CARS¹⁰.

Las técnicas no lineales se han utilizado para superar algunos de los inconvenientes de la espectroscopia Raman convencional, entre ellos, su baja eficiencia, su limitación a las regiones visible y ultravioleta cercano, y su susceptibilidad a la interferencia de la fluorescencia. La principal desventaja de los métodos no lineales es que tienden a ser específicos para el analito, y a menudo requieren varios láseres sintonizables distintos que se puedan aplicar a distintas especies. Hasta ahora ninguno de los métodos no lineales ha encontrado muchas aplicaciones entre los no especialistas. Por este motivo no se la considerará más detenidamente.

⁸ Para una revisión de la SERS, véase R. L. Garrell, *Anal. Chem.*, **1989**, *61*, 401A.

⁹ Para revisiones breves, véase S. A. Borman, *Anal. Chem.*, **1982**, *54*, 1021A; M. D. Morris y D. J. Wallin, *Anal. Chem.*, **1979**, *51*, 182A. Para discusiones más detalladas, véase *Chemical Applications of Nonlinear Raman Spectroscopy*, A. B. Harvey, Ed. New York: Academic Press, 1981; G. L. Eesely, *Coherent Raman Spectroscopy*. Elmsford, NY: Pergamon Press, 1981.

¹⁰ Para revisiones de la CARS, véase A. B. Harvey, *Anal. Chem.*, **1978**, *50*, 905A; J. F. Verdick, R. J. Hall y A. C. Eckbreth, *J. Chem. Educ.*, **1982**, *59*, 495.

18E. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 18-1.** ¿Por qué la relación de intensidades de las líneas anti-Stokes y Stokes aumenta con la temperatura de la muestra?
- 18-2.** ¿Qué es un estado virtual?
- 18-3.** ¿A qué longitudes de onda, en nanómetros, aparecerían las líneas Raman Stokes y anti-Stokes del tetracloruro de carbono ($\bar{\nu} = 218, 314, 459, 762$ y 790 cm^{-1}) si la fuente fuera
 (a) ¿Un láser de helio/neón (632,8 nm)?
 (b) ¿Un láser de iones argón (488,0 nm)?
- 18-4.** Considérese que las fuentes empleadas en el Problema 18-3 tienen la misma potencia. (a) Comparar las intensidades relativas de las líneas Raman del CCl_4 que se obtienen con cada una de las fuentes de excitación. (b) Si las intensidades se registran con un sistema monocromador/fotomultiplicador característico, ¿por qué los cocientes de intensidad medidos difieren de los cocientes calculados en el apartado (a)?
- 18-5.** ¿En qué circunstancias sería más adecuado un láser de helio/neón que uno de iones argón como fuente de excitación Raman?
- 18-6.** Para los estados vibracionales, la ecuación de Boltzmann se puede escribir como

$$\frac{N_1}{N_0} = e^{-\Delta E/kT}$$

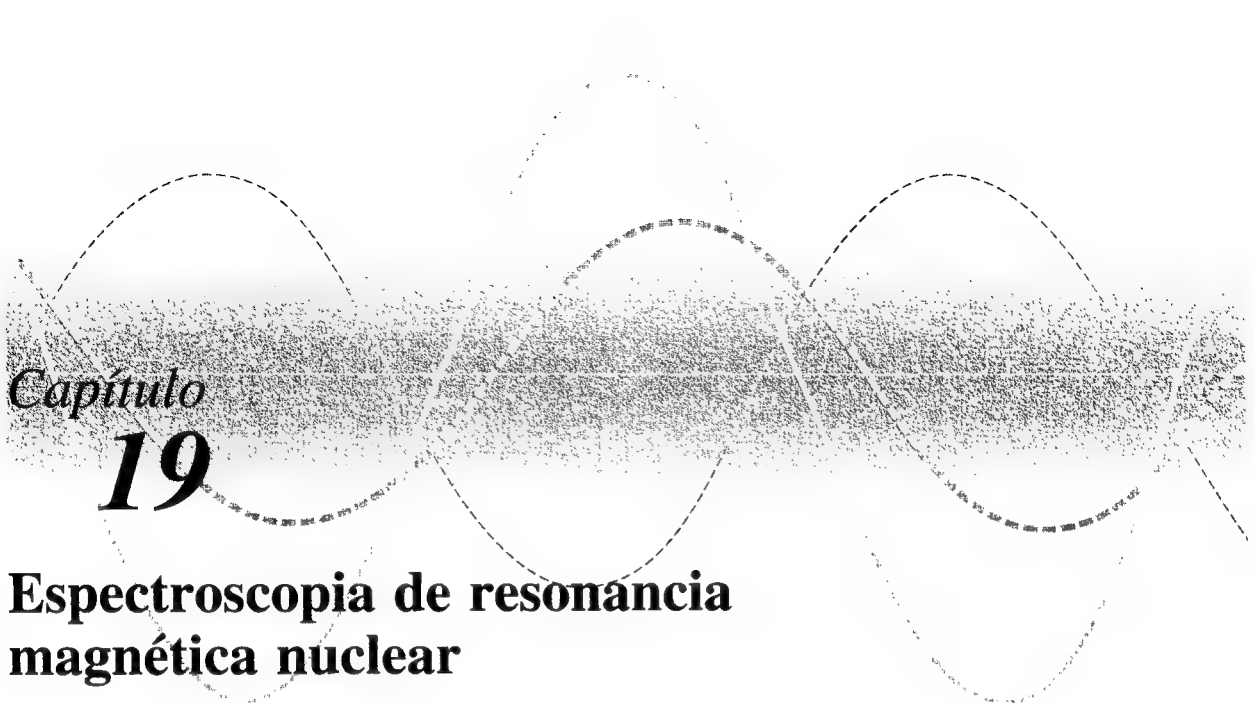
donde N_0 y N_1 son las poblaciones en los estados de menor y mayor energía respectivamente, ΔE es la diferencia de energía entre dichos estados, k es la constante de Boltzmann y T es la temperatura en grados Kelvin.

Para las temperaturas de 20°C y 40°C , calcular las relaciones entre las intensidades de las líneas anti-Stokes y Stokes para el CCl_4 a (a) 218cm^{-1} , (b) 459 cm^{-1} , (c) 790 cm^{-1} .

- 18-7.** Los datos siguientes se han obtenido para el CHCl_3 con el polarizador del espectrofotómetro (1) paralelo al plano de polarización del láser y (2) perpendicular al plano de la fuente.

Calcular la razón de despolarización e indicar qué picos Raman están polarizados.

	Intensidad relativa		
	$\Delta\bar{\nu}, \text{cm}^{-1}$	(1) $I_{\parallel}$	(2) $I_{\perp}$
(a)	760	0,60	0,46
(b)	660	8,4	0,1
(c)	357	7,9	0,6
(d)	258	4,2	3,2



Capítulo 19

Espectroscopia de resonancia magnética nuclear

La espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) se basa en la medida de la absorción de la radiación electromagnética en la región de las radiofrecuencias aproximadamente de 4 a 900 MHz. En contraste con la absorción ultravioleta, visible e infrarroja, en el proceso de absorción están implicados los núcleos de los átomos en vez de los electrones exteriores. Además, es necesario colocar el analito en un intenso campo magnético, con el fin de que aparezcan los estados de energía de los núcleos que hagan posible la absorción.

La espectroscopia de resonancia magnética nuclear es una de las técnicas más potentes de las que dispone el químico y el bioquímico para la elucidación de estructuras de las especies químicas. La técnica es también útil para la determinación cuantitativa de las especies absorbentes¹.

¹ Para un estudio adicional se recomiendan las siguientes referencias: E. D. Becker, *High Resolution NMR*, 2.^a ed. New York: Academic Press, 1980; F. A. Bovey, *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 2.^a ed. New York: Academic Press, 1988; R. H. Cox y D. E. Leyden, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.^a ed., P. J. Elving, M. M. Bursey e I. M. Kolthoff, Eds., Parte I, Vol. 10. New York: Wiley 1983; R. J. Abraham, J. Fisher y P. Loftus, *Introduction to NMR Spectroscopy*. New York: Wiley, 1988; J. W. Akitt, *NMR and Chemistry*, 2.^a ed.

Las bases teóricas de la espectroscopia RMN fueron propuestas por W. Pauli en 1924, quien sugirió que ciertos núcleos atómicos deberían tener propiedades de espín y momento magnético y que, como consecuencia, el exponerlos a un campo magnético conduciría a un desdoblamiento de sus niveles de energía. Durante el siguiente decenio se consiguió la verificación experimental de estos postulados. Pero no fue hasta 1946, cuando Bloch en Stanford, y Purcell en Harvard, trabajando independientemente, demostraron que los núcleos en un campo magnético intenso absorben radiación electromagnética, como consecuencia del desdoblamiento de niveles de energía inducido por el campo magnético. En 1952 los dos físicos compartieron el Premio Nobel por su trabajo.

En los cinco primeros años que siguieron al descubrimiento de la RMN, los químicos se dieron cuenta de que el entorno molecular influía en la absorción de la radiación de radiofrecuencias (RF) por un núcleo en un campo magnético, y que

New York: Chapman & Hall, 1992; J. Wonnell y J. Klinowski, *Fundamentals of Nuclear Magnetic Resonance*. New York: Wiley, 1993.

este efecto se podía correlacionar con la estructura molecular. En 1953, Varian Associates comercializaron el primer espectrómetro de RMN de alta resolución para estudios estructurales químicos. Desde entonces, el crecimiento de la espectroscopia de RMN ha sido explosivo, y la técnica ha influido notablemente en el desarrollo de la química orgánica, de la química inorgánica y de la bioquímica. Es improbable que haya transcurrido alguna vez tan poco tiempo entre un descubrimiento científico y su aplicación y aceptación generalizadas².

En la actualidad se utilizan dos tipos generales de espectrómetros de RMN, de **onda continua** (CW) y de **impulsos**, o de **transformada de Fourier** (FT/RMN). Los primeros estudios se realizaron con los instrumentos de onda continua. Sin embargo, hacia 1970 aparecieron en el comercio los espectrómetros de transformada de Fourier, y en la actualidad este tipo de instrumentos es el que domina el mercado. En ambos tipos de instrumentos, la muestra se coloca en un potente campo magnético con una intensidad de varios teslas³. Los espectrómetros de onda continua son semejantes en principio a los instrumentos ópticos de absorción en que se monitoriza la señal de absorción a medida que se barre lentamente la frecuencia de la fuente. En algunos instrumentos, se mantiene constante la frecuencia de la fuente mientras se varía la intensidad del campo. En los instrumentos de impulsos, la muestra se irradia con impulsos periódicos de energía de RF que atraviesan la muestra perpendicularmente al campo magnético. Esta excitación con impulsos provoca una señal en el dominio del tiempo que decae en el intervalo entre impulsos. Esta señal se convierte entonces en una señal en el dominio de la frecuencia mediante una transformación de Fourier y se obtiene de este

modo un espectro análogo al que se obtiene en un instrumento de onda continua.

Casi todos los instrumentos de RMN que se fabrican en la actualidad son del tipo de transformada de Fourier, y el uso de los instrumentos de onda continua está muy limitado a especiales aplicaciones de rutina, tales como la determinación del grado de hidrogenación del petróleo en su procesamiento y la determinación de agua en aceites, productos alimentarios y materiales agrícolas. A pesar del predominio de los instrumentos de impulsos en el mercado, se ha creído conveniente basar el desarrollo inicial de la teoría de la RMN en los experimentos de onda continua, y pasar desde aquí a la discusión de las medidas de impulsos de transformada de Fourier.

19A. TEORÍA DE LA RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

Al igual que con la espectroscopia óptica, tanto la mecánica clásica como la cuántica resultan útiles para explicar el fenómeno de la RMN. Los dos tratamientos conducen a idénticas relaciones. Sin embargo, la mecánica cuántica proporciona una útil relación entre las frecuencias de absorción y los estados de energía de los núcleos, mientras que la mecánica clásica proporciona una descripción física clara del proceso de absorción y de la forma de medirlo.

En esta sección, se da primero una descripción cuántica de la RMN que es aplicable tanto a las medidas de RMN de onda continua como a las de impulsos. A continuación, se da un enfoque clásico de la RMN y se muestra cómo éste proporciona una descripción útil de la RMN de onda continua. Por último, se completa este apartado con una discusión de las medidas de transformada de Fourier basada de nuevo en la descripción clásica.

19A-1. Descripción cuántica de la RMN

Para explicar las propiedades de ciertos núcleos, es necesario suponer que giran alrededor de un eje y de este modo tienen la propiedad de *espín*. Los núcleos con espín tienen un momento angular p . Además, la componente observable máxima de este mo-

² Para una interesante discusión de la historia de la RMN, véase E. D. Becker, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 295A; D. C. Lankin, R. R. Ferraro y R. Jarnutowski, *Spectroscopy*, **1992**, 7(8), 18.

³ El símbolo según el SI para el campo magnético es B ; sin embargo, una antigua convención, que todavía se usa con frecuencia, emplea el símbolo H . La unidad que se utiliza para describir la intensidad del campo es el tesla (T), que se define como: $1 \text{ T} = 1 \text{ kg s}^{-2} \text{ A}^{-1}$. Otra unidad que fue bastante popular en el pasado y que todavía se utiliza a menudo es el gauss (G). La relación entre las dos unidades es $10^4 \text{ G} = 1 \text{ T}$.

mento angular está cuantizada y debe ser un múltiplo entero o semientero de $h/2\pi$, donde h es la constante de Planck. El número máximo de componentes de espín o valores de p para un núcleo en particular, depende de su *número cuántico de espín* I . Se encuentra entonces que un núcleo tendrá $2I + 1$ estados discretos. La componente del momento angular de estos estados en cualquier dirección elegida tendrá los valores de $I, I - 1, I - 2, \dots, -I$. En ausencia de un campo externo, los distintos estados tienen *energías idénticas*.

Los cuatro núcleos que han sido de más interés para químicos orgánicos y bioquímicos son ^1H , ^{13}C , ^{19}F y ^{31}P , y serán los únicos cuatro que consideraremos. El número cuántico de espín de esos núcleos es $1/2$. Por tanto, cada núcleo tiene dos estados de espín, que corresponden a $I = +1/2$ e $I = -1/2$. Los núcleos más pesados tienen números de espín que varían desde cero, lo que implica que no tienen componente de espín neto, hasta por lo menos $9/2$.

Puesto que un núcleo posee carga, su espín origina un campo magnético análogo al campo que se produce cuando una corriente eléctrica fluye a través de una bobina. El momento magnético resultante μ se orienta a lo largo del eje del espín y es proporcional al momento angular p . De este modo,

$$\mu = \gamma p \quad (19-1)$$

donde la constante de proporcionalidad γ es la *relación giromagnética*, la cual difiere para cada núcleo. Como se verá, la relación giromagnética es también un factor en la constante de proporcionalidad en la relación entre la frecuencia de la energía absorbida y la intensidad del campo magnético tal

como se muestra en la Ecuación 19-5. Las relaciones giromagnéticas para los cuatro elementos con los que trataremos se encuentran en la segunda columna de la Tabla 19-1. La unidad del SI para estas constantes es el radián $\cdot$ tesla $^{-1}$ $\cdot$ segundo $^{-1}$.

La interrelación entre el espín nuclear y el momento magnético conduce a una serie de estados cuánticos magnéticos observables m , dados por

$$m = I, I - 1, I - 2, \dots, -I \quad (19-2)$$

De esta forma, los núcleos que se consideran tienen dos números cuánticos magnéticos, $m = +1/2$ y $m = -1/2$. Obsérvese que las reglas para determinar los números cuánticos nucleares son similares a las de los números cuánticos electrónicos.

Niveles de energía en un campo magnético

Como se indica en la Figura 19-1, cuando un núcleo con un número cuántico de espín de un medio se somete a un campo magnético externo B_0 , su momento magnético se orienta en una de las dos direcciones posibles con respecto al campo, en función de su estado cuántico magnético. La energía potencial E de un núcleo en estas dos orientaciones, o estados cuánticos, viene dada por

$$E = -\frac{\gamma m h}{2\pi} B_0 \quad (19-3)$$

La energía para el estado de menor energía $m = +1/2$ (véase Fig. 19-1) viene dada por

$$E_{+1/2} = -\frac{\gamma h}{4\pi} B_0$$

TABLA 19-1. Propiedades magnéticas de cuatro importantes núcleos que tienen un número cuántico de espín de $1/2$

Núcleo	Relación giromagnética (radián T $^{-1}$ s $^{-1}$)	Abundancia isotópica, %	Sensibilidad relativa ^a	Frecuencia de absorción, MHz ^b
^1H	$2,6752 \times 10^8$	99,98	1,00	200,00
^{13}C	$6,7283 \times 10^7$	1,11	0,016	50,30
^{19}F	$2,5181 \times 10^8$	100,00	0,83	188,25
^{31}P	$1,0841 \times 10^8$	100,00	0,066	81,05

^a A campo constante para igual número de núcleos.

^b A una intensidad de campo de 4,69 T.

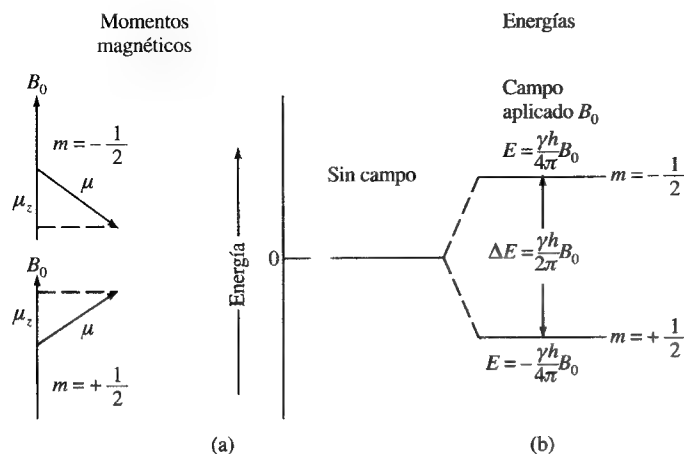


Figura 19-1. Momentos magnéticos y niveles de energía para un núcleo con un número cuántico de espín de $\pm 1/2$.

Para el estado $m = -1/2$ la energía es

$$E_{-1/2} = \frac{\gamma h}{4\pi} B_0$$

De este modo, la diferencia de energía ΔE entre los dos viene dada por

$$\Delta E = \frac{\gamma h}{4\pi} B_0 - \left(-\frac{\gamma h}{4\pi} B_0 \right) = \frac{\gamma h}{2\pi} B_0 \quad (19-4)$$

Como en otros tipos de espectroscopia, las transiciones entre los niveles de energía se pueden producir por absorción o emisión de radiación electromagnética de una frecuencia ν_0 que corresponda en energía a ΔE . Así, sustituyendo la relación de Planck $\Delta E = h\nu_0$ en la Ecuación 19-4, se obtiene la frecuencia de la radiación necesaria para producir la transición

$$\nu_0 = \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad (19-5)$$

Como se sugirió en un párrafo anterior, la frecuencia de una transición magnética es proporcional a la intensidad del campo aplicado B_0 con una constante de proporcionalidad de $\gamma/2\pi$.

EJEMPLO 19-1

Muchos instrumentos de RMN de protón utilizan un imán que proporciona una intensidad del campo de 4,69 T. ¿A qué frecuencia absorbería el núcleo de hidrógeno en este campo?

Sustituyendo la relación giromagnética para el protón (Tabla 19-1) en la Ecuación 19-5 se encuentra

$$\begin{aligned} \nu_0 &= \frac{(2,68 \times 10^8 \text{ T}^{-1} \text{ s}^{-1})(4,69 \text{ T})}{2\pi} \\ &= 2,00 \times 10^8 \text{ s}^{-1} = 200 \text{ MHz} \end{aligned}$$

El ejemplo anterior revela que se necesita una radiación de radiofrecuencia de aproximadamente 200 MHz para producir un cambio en la orientación del momento magnético del protón desde una dirección paralela al campo a la opuesta.

Distribución de las partículas entre los estados cuánticos magnéticos

En ausencia de un campo magnético, las energías de los estados cuánticos magnéticos de un núcleo son idénticas. En consecuencia, un conjunto grande de protones contiene un número idéntico de núcleos con números cuánticos magnéticos de $+1/2$ y $-1/2$. Pero cuando se colocan en un campo magnético, los núcleos tienden a orientarse de modo que predomine el estado de menor energía ($m = +1/2$). Es instructivo calcular la extensión de esta predominancia en un experimento de RMN característico. Con este propósito, la ecuación de Boltzmann (página 209) puede escribirse en la forma

$$\frac{N_j}{N_0} = \exp\left(\frac{-\Delta E}{kT}\right) \quad (19-6)$$

donde N_j es el número de protones en el estado de mayor energía ($m = -1/2$), N_0 es el número en el de menor energía ($m = +1/2$), k es la constante de Boltzmann ($1,38 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$), T es la temperatura absoluta y ΔE se define por la Ecuación 19-4.

Sustituyendo la Ecuación 19-4 en la 19-6 se obtiene

$$\frac{N_j}{N_0} = \exp\left(\frac{-\gamma h B_0}{2\pi k T}\right) \quad (19-7)$$

EJEMPLO 19-2

Calcular el número relativo de protones en los estados magnéticos de mayor y de menor energía cuando una muestra se coloca en un campo de 4,69 T a 20 °C.

Sustituyendo los valores numéricos en la Ecuación 19-7 se obtiene

$$\frac{N_j}{N_0} = e^{\left(\frac{-(2,68 \times 10^8 \text{ T}^{-1} \text{ s}^{-1})(6,63 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s})(4,69 \text{ T})}{2\pi(1,38 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1})(293 \text{ K})}\right)}$$

$$\frac{N_j}{N_0} = e^{-3,28 \times 10^{-5}} = 0,999967$$

o

$$\frac{N_0}{N_j} = 1,000033$$

De este modo, para exactamente 10^6 protones en el estado de mayor energía habrá

$$N_0 = 10^6 / 0,999967 = 1.000.033$$

en el de menor energía. Este valor corresponde a un exceso de 33 ppm.

El Ejemplo 19-2 demuestra que el éxito de las mediciones en RMN dependen de un número considerablemente pequeño (~ 33 ppm) de exceso de protones en el estado de menor energía. Sin embargo, si el número de núcleos en los dos estados fuese idéntico no se observaría una absorción neta, puesto que el que el número de partículas excitadas por la radiación sería exactamente igual que el número en las que se induce emisión.

Desarrollando el término de la derecha en la Ecuación 19-7 como una serie de Maclaurin, y des-

preciando los términos superiores al segundo, se obtiene una importante correlación:

$$\frac{N_j}{N_0} = 1 - \frac{\gamma h B_0}{2\pi k T} \quad (19-8)$$

La Ecuación 19-8 demuestra que el número relativo de núcleos de baja energía en exceso está linealmente relacionado con la intensidad del campo magnético, de modo que la intensidad de una señal de RMN aumenta linealmente con la intensidad del campo. Esta dependencia de la sensibilidad de la señal con la intensidad del campo magnético ha conducido a los fabricantes a fabricar imanes con intensidades de campo tan grandes como 14 T.

19A-2. Descripción clásica de la RMN

Para comprender el proceso de absorción, y en particular la medición de la absorción, resulta más útil la descripción clásica del comportamiento de una partícula cargada en un campo magnético.

Precesión de los núcleos en un campo

En primer lugar se considera el comportamiento de un cuerpo magnético que no está en rotación, como una aguja de brújula, en un campo magnético externo. Si se desplaza momentáneamente de su alineamiento con el campo, la aguja oscilará en un plano alrededor de su pivote como consecuencia de la fuerza ejercida por el campo sobre sus dos extremos; en ausencia de fricción, los extremos de la aguja oscilarán indefinidamente de un lado a otro alrededor del eje del campo. Sin embargo, se produce un movimiento totalmente distinto si el imán está girando rápidamente alrededor de su eje nort-sur. Debido al efecto giroscópico, la fuerza aplicada por el campo sobre el eje de rotación provoca un movimiento no en el plano de la fuerza sino perpendicular al mismo; por consiguiente, el eje de la partícula en rotación se mueve en una trayectoria circular. Esto es, el eje de rotación de la partícula que gira *precesa* alrededor del vector que representa al campo magnético aplicado. Este movimiento, que se ilustra en la Figura 19-2, es similar al movimiento de un giroscopio cuando se desplaza de la vertical por la aplicación de una fuerza lateral. La velocidad angular de este movimiento ω_0 , en radianes por segundo, viene dada por

$$\omega_0 = \gamma B_0 \quad (19-9)$$

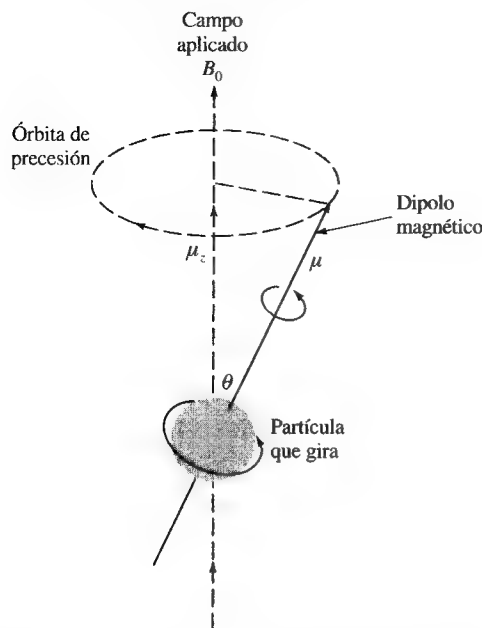


Figura 19-2. Precesión de una partícula en rotación en un campo magnético.

La velocidad angular se puede convertir en la frecuencia de precesión ν_0 , conocida como *frecuencia de Larmor*, dividiendo por 2π . Así,

$$\nu = \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad (19-10)$$

La comparación de la Ecuación 19-10 con la Ecuación 19-5 revela que *frecuencia de Larmor* es idéntica a la frecuencia de la radiación absorbida que se deduce de las consideraciones de la mecánica cuántica.

El proceso de absorción con onda continua

La energía potencial E de la partícula cargada en precesión que se muestra en la Figura 19-2 viene dada por

$$E = -\mu_z B_0 = -\mu B_0 \cos \theta \quad (19-11)$$

donde θ es el ángulo entre el vector campo magnético y el eje de giro de la partícula, μ es el momento magnético de la partícula, y μ_z es la componente de μ en la dirección del campo magnético. Por tanto, cuando un núcleo absorbe energía de radiofrecuencias, su ángulo de precesión θ cambia. Por consi-

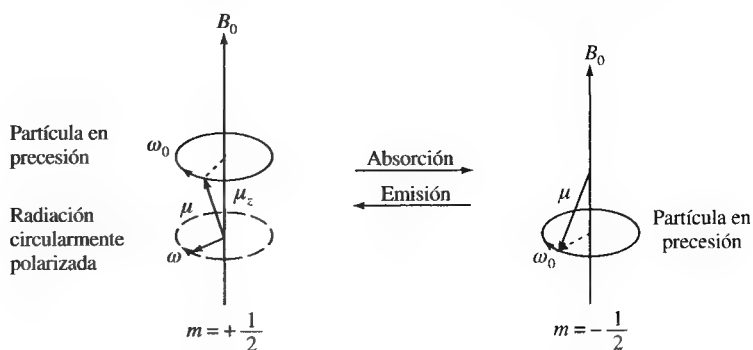
guiente, se puede imaginar que cuando un núcleo que tiene un número cuántico de espín de $1/2$ absorbe, implica una inversión brusca del momento magnético que está orientado en la dirección del campo a un estado en que el momento se encuentra orientado en el sentido opuesto. El proceso se representa en la Figura 19-3. Para que el dipolo magnético cambie de orientación bruscamente, debe haber una fuerza magnética perpendicular al campo fijo, que se mueva con una trayectoria circular en fase con el dipolo en precesión. El momento magnético de una *radiación circularmente polarizada* de la frecuencia adecuada tiene estas propiedades; es decir, que el vector campo magnético de esta radiación tiene una componente circular, como la que se representa por el círculo de trazos en la Figura 19-3⁴. Si la frecuencia de rotación del vector campo magnético de la radiación es igual a la frecuencia de precesión del núcleo, puede tener lugar la inversión brusca y la absorción. Como se indica en el siguiente párrafo, la radiación circularmente polarizada de la frecuencia adecuada se puede producir por la bobina de un oscilador de radiofrecuencias.

La radiación producida por la bobina de un oscilador de RF, que se utiliza como fuente en los instrumentos de RMN, es plano polarizada. Sin embargo, la radiación plano polarizada está constituida por dos componentes d y l de radiación circularmente polarizada. Como se ilustra en la parte inferior de la Figura 19-4b, el vector de la componente d gira en el sentido de las agujas del reloj a medida que la radiación se acerca al observador; el vector de la componente l gira en el sentido opuesto. Como se muestra en la parte inferior de la figura, con la suma de los dos vectores resulta un vector que vibra en un solo plano (Fig. 19-4a).

De esta forma, la radiación electromagnética que procede de una bobina osciladora perpendicular a la dirección del campo magnético fijo, introduce radiación circularmente polarizada dentro del volumen de la muestra, en un plano que es el adecuado para la absorción por los núcleos de la misma. Sólo se adsorbe la componente magnética de la radiación de excitación que gira en la dirección de precesión.

⁴ Es importante subrayar aquí, que en contraste con la espectroscopia óptica donde es el campo eléctrico de la radiación electromagnética el que interacciona con la especie absorbente, en la espectroscopia de RMN, es el *campo magnético* de la radiación el que excita a la especie absorbente.

Figura 19-3. Modelo para la absorción de radiación por una partícula en precesión.



Proceso de relajación en RMN

Cuando se exponen núcleos a una radiación de frecuencia adecuada, la absorción tiene lugar debido al ligero exceso de núcleos en el estado de menor energía cuando se encuentran en un campo magnético intenso. Dado que este exceso es pequeño como indica el resultado del Ejemplo 19-2, siempre existe el riesgo de que el proceso de absorción iguale el número de núcleos en los dos estados, y en este caso la señal de absorción disminuirá y se aproximará a cero. Cuando ocurre esto, se dice que el sistema de espín está *saturado*. A fin de evitar la saturación, es necesario que la velocidad de relajación de los núcleos excitados a sus estados de menor energía sea igual, o mayor, que la velocidad de absorción de la energía de radiofrecuencia. Una forma de relajación evidente consiste en la emisión de una frecuencia que corresponda a la diferencia

de energía entre los dos estados, lo que da lugar a fluorescencia. Sin embargo, la teoría de la radiación indica que la probabilidad de reemisión espontánea de fotones varía con el cubo de la frecuencia, y que, en las radiofrecuencias, este proceso no tiene lugar de forma significativa. Por tanto, en los procesos de RMN es de gran importancia la relajación no radiante.

Para reducir la saturación y producir una señal de absorción fácilmente detectable, la relajación debería ocurrir con la mayor rapidez posible; es decir, el tiempo de vida del estado excitado debería ser pequeño. Un segundo factor, la relación inversa entre el tiempo de vida de un estado excitado y la anchura de su línea de absorción, contradice la ventaja de los tiempos de vida muy cortos. O sea, cuando las velocidades de relajación son altas, o los tiempos de vida cortos, el ensanchamiento de la línea, impide medidas de elevada resolución. Estos

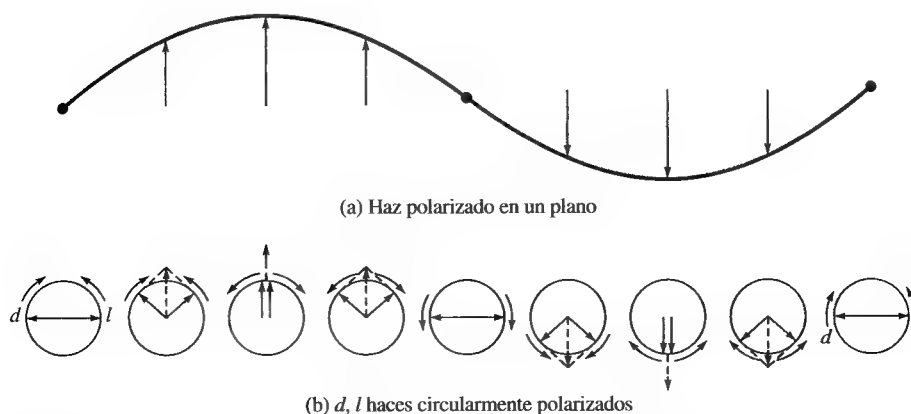


Figura 19-4. Equivalencia entre un haz polarizado en el plano y dos (d , l) haces de radiación circularmente polarizada.

dos factores opuestos hacen que el tiempo de vida media óptimo para una especie excitada se encuentre entre 0,1 y 10 s.

Existen dos tipos importantes de procesos de relajación en espectroscopia de RMN: (1) *relajación longitudinal o espín-red* y (2) *relajación transversal o espín-espín*.

Relajación espín-red. Los núcleos que absorben en un experimento de RMN forman parte de un conjunto mayor de átomos que constituyen la muestra. La totalidad del conjunto se denomina la *red*, independientemente de si la muestra es un sólido, un líquido o un gas. En los dos últimos estados en particular, los distintos núcleos que constituyen la red se encuentran en un violento movimiento vibratorio y rotatorio, que origina un campo complejo alrededor de cada núcleo magnético. El campo de red que resulta contiene así un número infinito de componentes magnéticas, algunas de las cuales corresponderán en frecuencia y fase a la frecuencia de precesión del núcleo magnético de interés. Estas componentes originadas vibracional y rotacionalmente interaccionan con los núcleos y hacen que éstos pasen desde el estado de espín más alto al más bajo, de modo que la energía absorbida simplemente aumenta la amplitud de las vibraciones o rotaciones térmicas. Este cambio origina un ligero aumento de la temperatura de la muestra.

La relajación espín-red es un proceso de disminución exponencial de primer orden, que se puede caracterizar por un tiempo de relajación T_1 , que es una medida del tiempo de vida promedio de los núcleos en el estado de mayor energía. Además de depender de la relación giromagnética de los núcleos que absorben, T_1 está fuertemente afectado por la movilidad de la red. En los sólidos cristalinos y en los líquidos viscosos, donde las movilidades son bajas, T_1 es grande. Al aumentar la movilidad (por ejemplo, a elevadas temperaturas), aumentan las frecuencias de vibración y de rotación y, por tanto, la probabilidad de que exista una fluctuación magnética de la magnitud apropiada para que se produzca una transición de relajación; como consecuencia de ello, T_1 disminuye. Por otra parte, con movilidades muy altas, las frecuencias de fluctuación también aumentan y se distribuyen en un intervalo tan amplio que la probabilidad de que se dé una frecuencia adecuada para una transición espín-red disminuye de nuevo. Por este motivo, se

encuentra un mínimo en la relación entre T_1 y la movilidad de la red.

Relajación espín-espín. Algunos otros efectos tienden a disminuir los tiempos de relajación y, por tanto, a ensanchar las líneas de RMN. Estos efectos normalmente se agrupan y se describen mediante el tiempo de relajación transversal o espín-espín T_2 . Los valores de T_2 generalmente son tan pequeños para sólidos cristalinos o líquidos viscosos (unos 10^{-4} s) como para impedir el uso de estas muestras para espectros de elevada resolución a no ser que se utilicen técnicas especiales. Estas técnicas se describen brevemente en una sección posterior que trata de estudios de sólidos con RMN de ^{13}C .

Cuando dos núcleos vecinos del mismo tipo tienen la misma velocidad de precesión, pero se hallan en diferentes estados cuánticos magnéticos, los campos magnéticos de cada uno de ellos pueden interaccionar entre sí produciendo un intercambio de estados cuánticos. Es decir, uno de los núcleos en el estado de espín más bajo es excitado mientras que el núcleo en el estado excitado se relaja hasta el estado de menor energía. De esta forma, no se produce un cambio neto en la población relativa de los distintos estados de espín y, por tanto, no disminuye la saturación, pero el tiempo de vida promedio de un núcleo excitado en particular se acorta. El resultado es un ensanchamiento de las líneas.

Se deben considerar dos causas más del ensanchamiento de líneas. Ambas aparecen si B_0 en la Ecuación 19-10 difiere ligeramente de núcleo a núcleo; en estas circunstancias, se absorbe una banda de frecuencias, en lugar de una sola frecuencia. Una de las causas de esta variación en el campo estático es la presencia en la muestra de otros núcleos magnéticos, cuyos espines originen campos locales que puedan aumentar o disminuir el campo magnético externo que actúa sobre el núcleo de interés. En una red en la que haya movilidad, estos campos locales tienden a anularse debido a los movimientos rápidos y aleatorios de los núcleos que los producen. Sin embargo, en un sólido o en un líquido viscoso, los campos locales pueden persistir bastante tiempo como para producir una variedad de campos de fuerza y por tanto una gama de frecuencias de absorción. Se producen también variaciones en el campo estático debido a pequeñas heterogeneidades en la propia fuente del campo. Este efecto puede contrarrestarse en gran parte haciendo girar rápidamente toda la muestra en el campo magnético.

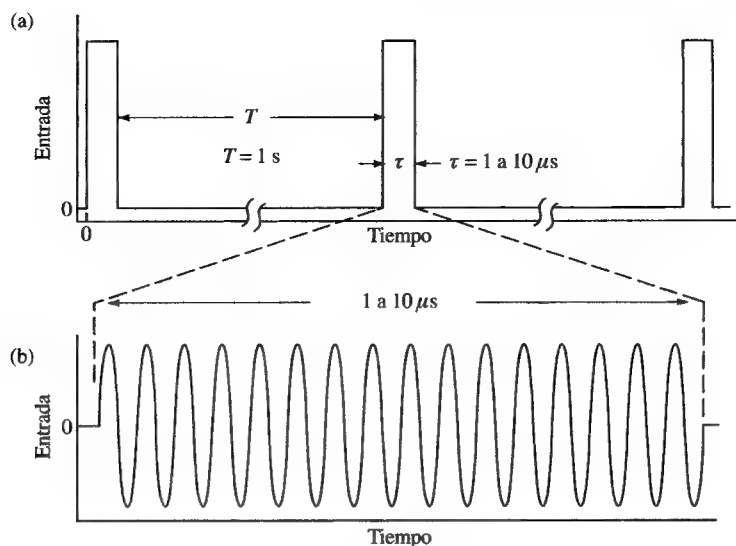


Figura 19-5. Señal de entrada típica para la RMN de impulsos: (a) secuencia de impulsos; (b) vista ampliada de un impulso de radiofrecuencia, generalmente con una frecuencia de varios cientos de MHz. El eje del tiempo no está dibujado a escala.

19A-3. RMN de transformada de Fourier⁵

En las medidas de RMN de impulsos o de transformada de Fourier, los núcleos que están en un intenso campo magnético, se someten periódicamente a impulsos muy cortos de una intensa radiación de radiofrecuencia como se muestra en la Figura 19-5. La forma de la onda en la parte (a) de la figura ilustra el tren de impulsos, la anchura del impulso y el intervalo de tiempo entre impulsos. La vista ampliada de uno de estos impulsos muestra que cada impulso es realmente un paquete de radiación de RF. Se ha intentado que las formas de las ondas sean ilustrativas y no se han dibujado a escala. El paquete de radiación consta de muchos más ciclos que los dibujados. La duración de los impulsos τ es por lo general menor de $10 \mu\text{s}$, y la frecuencia de la radiación es del orden de 10^2 a 10^3 MHz. El intervalo entre los impulsos T es, de ordinario, de uno a varios segundos. Durante el tiempo T los núcleos excitados al relajarse emiten una señal de radiofre-

cuencia en el dominio del tiempo, que se denomina señal de *caída libre de inducción* (FID). La señal de caída libre de inducción puede detectarse con una bobina radorreceptora que se coloca perpendicularmente al campo magnético estático. De hecho, a menudo se utiliza una sola bobina para producir los impulsos y para detectar la señal de caída. La señal de FID se digitaliza y se almacena en un ordenador para el procesamiento de los datos. Normalmente, se suman las señales de caída en el dominio del tiempo de numerosos impulsos sucesivos, para mejorar la relación señal/ruido, tal como se describió en el Apartado 5C-2. La resultante de la suma de datos se convierte entonces en una señal del dominio de la frecuencia mediante una transformación de Fourier, y finalmente se pueden filtrar digitalmente los datos obtenidos para mejorar aún más la relación señal/ruido. La señal de salida del dominio de la frecuencia que se obtiene es similar al espectro que se produce en un experimento de barrido de onda continua.

Con el objeto de describir los procesos que ocurren en un experimento de RMN de impulsos, es útil emplear una serie de coordenadas cartesianas, con el campo magnético sobre el eje z como muestra la Figura 19-6a. Las flechas finas representan los vectores momento magnético de algunos núcleos en el estado de menor energía ($m = +1/2$). Las orientaciones de esos vectores alrededor del eje z son aleatorias, y todos están girando con la

⁵ Para un tratamiento más completo de la RMN de transformada de Fourier, véase R. W. King y K. R. Williams, *J. Chem. Educ.*, **1989**, 66, A213, A243; **1990**, 67, A93, A125; A. E. Deroome, *Modern NMR Techniques for Chemistry Research*. New York: Pergamon Press, 1987; J. W. Akitt, *NMR and Chemistry*, 3.^a ed. New York: Chapman y Hall, 1992; R. J. Abraham, J. Fisher y P. Loftus, *Introduction to NMR Spectroscopy*. New York: Wiley, 1988.

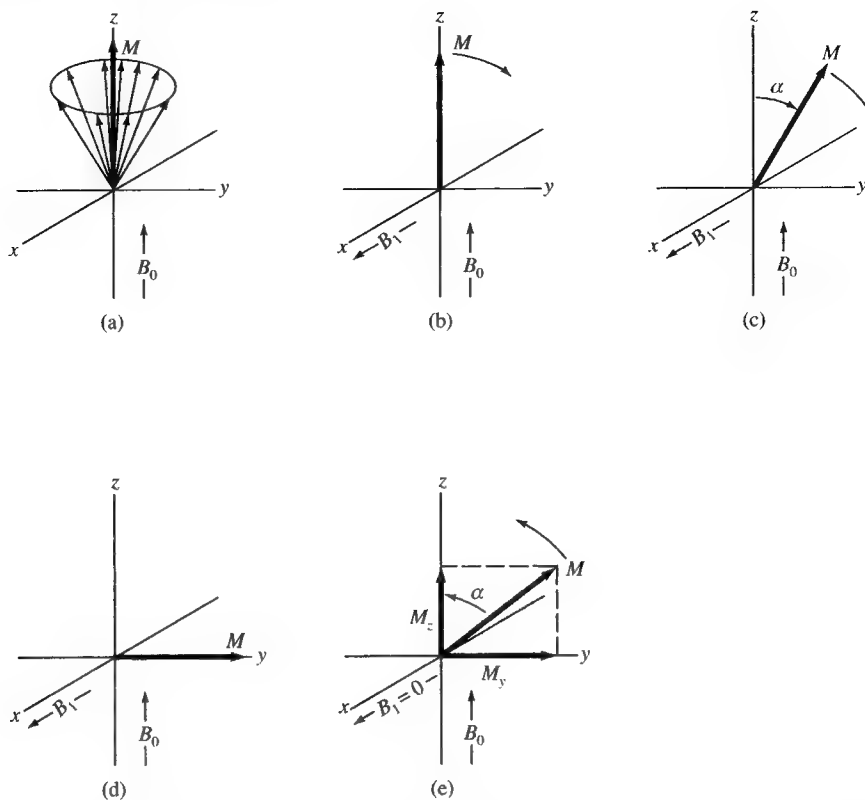


Figura 19-6. Comportamiento de los momentos magnéticos del núcleo en un campo de referencia en rotación, en un experimento con impulsos a 90° . (a) Vectores magnéticos de los núcleos de menor energía en exceso antes del impulso. (b), (c), (d) Rotación del vector de magnetización M de la muestra durante el tiempo de vida del impulso. (e) Relajación tras la finalización del impulso.

frecuencia de Larmor ω_0 . Estos núcleos en exceso producen un momento magnético neto estacionario M alineado a lo largo del eje z , tal como indica la flecha gruesa en la figura.

Para la explicación que sigue, es útil imaginar que las coordenadas de la Figura 19-6 están girando alrededor del eje z exactamente a la frecuencia de Larmor. En este *modelo rotatorio de referencia*, los vectores momento magnético individuales de la Figura 19-6a quedan fijos en el espacio con la orientación que muestra la figura. A menos que se diga lo contrario, el resto de la figura se discutirá en el marco de este modelo rotatorio de referencia, en lugar de hacerlo respecto a un *modelo de referencia estático, o del laboratorio*.

Excitación de impulsos

La Figura 19-6b muestra la posición del momento magnético neto en el instante en que el impulso de radiofrecuencia que viaja a lo largo del eje x , incide

sobre la muestra. El campo *magnético* de la radiación electromagnética incidente viene representado por el símbolo B_1 . En el modelo rotatorio de referencia, B_1 y el vector de magnetización de la muestra M son estáticos, uno a lo largo del eje x y el otro perpendicular a él. Empleando física elemental, es posible demostrar que con cada impulso, M experimentará una fuerza de torsión que tenderá a inclinarlo respecto del eje z . Como se muestra en las Figuras 19-6c y 19-6d, este momento de rotación hace girar el momento magnético de la muestra alrededor del eje x en el plano y - z ⁶. La

⁶ Una idea intuitiva del porqué la RMN es una técnica de «resonancia» se puede obtener de la Figura 19-6. La resonancia es una condición en la que la energía se transfiere de forma que una pequeña perturbación periódica produce un gran cambio en alguno de los parámetros del sistema que se perturba. La RMN es una técnica de resonancia porque la pequeña perturbación periódica B_1 , produce un cambio importante en la orientación del vector de magnetización de la muestra M (Fig. 19-6d). En la mayoría de los experimentos, B_1 es dos o más órdenes de magnitud menor que B_0 .

extensión de la rotación depende de la duración del impulso τ de acuerdo con la ecuación

$$\alpha = \gamma B_1 \tau \quad (19-12)$$

donde α es el ángulo de rotación en radianes. En muchos experimentos de transformada de Fourier, se elige una duración de impulso para que α sea 90° o $\pi/2$ radianes, tal como se muestra en la Figura 19-6d. Normalmente, el tiempo necesario para que se consiga este ángulo es de 1 a 10 μ s. Cuando el impulso ha terminado, los núcleos empiezan a relajarse y vuelven a sus posiciones de equilibrio, tal como se indica en la Figura 19-6e. Como ya se ha explicado en la sección anterior, la relajación tiene lugar por dos mecanismos independientes: interacciones espín-red, y espín-espín. Después de algunos segundos, estas interacciones hacen que los núcleos vuelvan a sus estados originales que se representan en la Figura 19-6a.

Cuando un núcleo retorna a su estado de equilibrio después de haber sido inclinado por un impulso de radiación de RF tal como se muestra en la Figura 19-6e, hay una disminución en la componente del momento magnético a lo largo del eje y M_y y un aumento en la componente del momento magnético M_z a lo largo del eje z. La Figura 19-7 proporciona una descripción más detallada de los mecanismos de los dos procesos de relajación tal como se perciben, ahora en un modelo estático de referencia. En la relajación espín-red, la magnetización a lo largo de eje z aumenta hasta que alcanza de nuevo su valor original que se muestra en la Figura 19-6a. En la relajación espín-espín, los núcleos intercambian entre ellos la energía de espín, de tal forma que unos alcanzan una frecuencia de precesión mayor que la frecuencia de Larmor, mientras que en otros es menor. El resultado es que los espines empiezan a distribuirse en el plano x - y tal como se indica en la parte derecha de la Figura 19-7. Por último, esto conduce a una disminución hasta cero del momento magnético a lo largo del eje y. Cuando se completa el tiempo de relajación en el eje z, no puede existir ninguna componente magnética residual en el plano x - y , lo que significa que $T_2 \leq T_1$.

Caída libre de inducción (FID)

En relación de nuevo con la Figura 19-6d, considérese lo que ocurrirá cuando la señal B_1 descienda a cero al final del impulso. Ahora, sin embargo, re-

sulta conveniente describir qué es lo que está ocurriendo en el modelo de referencia estático del laboratorio en lugar del rotatorio. Si las coordenadas están fijas, el momento magnético M debe girar en el sentido de las agujas del reloj alrededor del eje z con la frecuencia de Larmor. Este movimiento da origen a una señal de radiofrecuencia que se puede detectar con una bobina a lo largo del eje x. Tal como se ha mencionado anteriormente, se puede emplear la misma bobina que se utiliza para producir el impulso original. Al producirse la relajación, esta señal disminuye exponencialmente y se aproxima a cero a medida que el vector magnético se aproxima al eje z. Esta señal, en el dominio del tiempo, constituye la caída libre de inducción que se ha mencionado antes; por último, mediante una transformación de Fourier se convierte en una señal del dominio de la frecuencia.

La Figura 19-8 ilustra la caída libre de inducción que se observa para los núcleos de ^{13}C cuando se excitan con un impulso de RF que tiene una frecuencia que coincide *exactamente* con la frecuencia de Larmor de los núcleos. Los núcleos que producen la señal son los cuatro núcleos de ^{13}C del dioxano, que se comportan de manera idéntica en el campo magnético. La FID en la Figura 19-8a, es una curva exponencial que se aproxima a cero después de unas pocas décimas de segundo. El evidente ruido superpuesto al modelo de caída es un artefacto experimental causado por las bandas laterales giratorias que para los fines de nuestra discusión se puede despreciar. La Figura 19-8b es la transformada de Fourier de la curva de la Figura 19-8a, que muestra en su parte izquierda el único pico de absorción de ^{13}C que presenta el dioxano. Cuando la frecuencia de irradiación ν difiere de la frecuencia de Larmor $\omega_0/2\pi$ en una pequeña cantidad, como ocurre normalmente, la caída exponencial se modula por una función seno de frecuencia $|\nu - \omega_0/2\pi|$. Este efecto se muestra en la Figura 19-9 cuando la diferencia de frecuencias es de 50 Hz.

Cuando están presentes núcleos magnéticamente distintos, la FID desarrolla una señal con una pulsación diferente como el de la Figura 19-10a, que es el espectro de los núcleos de ^{13}C del ciclohexeno. Este compuesto contiene tres pares de átomos de carbono magnéticamente distintos: el par de carbonos olefínicos, el par de carbonos alifáticos adyacentes al par olefínico y los dos que están directamente opuestos al grupo olefínico. Las líneas de la Figura 19-10b que se diferencian en 62 Hz provienen de los dos pares de átomos de carbono alifáti-

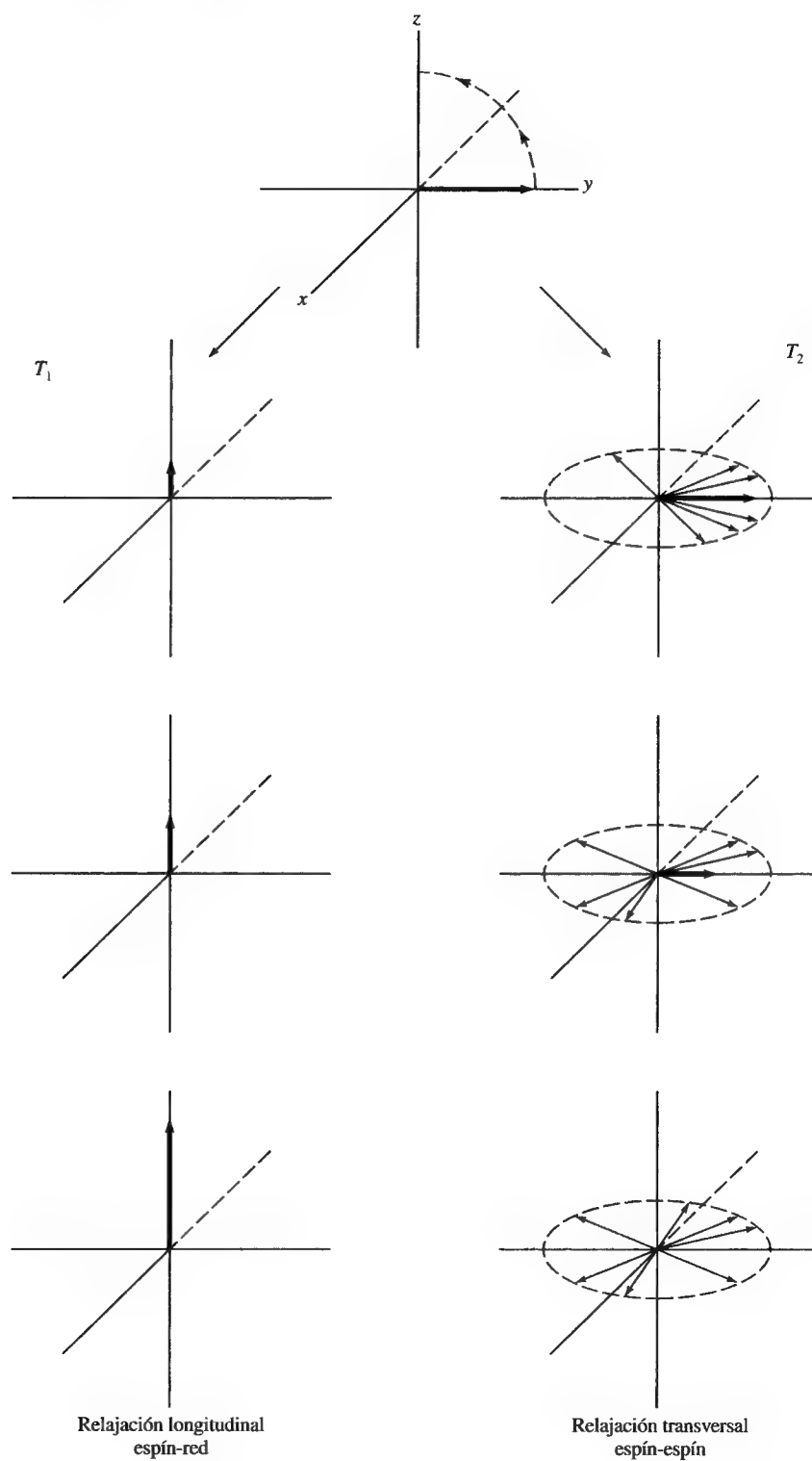


Figura 19-7. Dos procesos de relajación nuclear. La relajación longitudinal tiene lugar en el plano yz , la transversal en el plano xy . (Cortesía del Profesor Stanford L. Smith, University of Kentucky, Lexington, KY.)

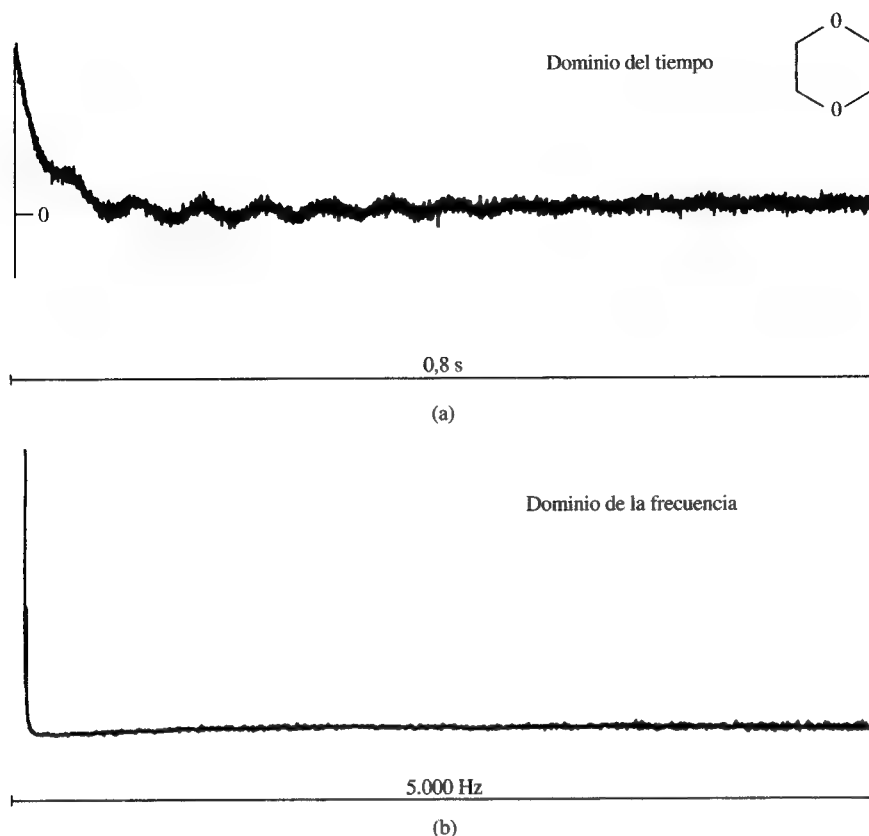


Figura 19-8. (a) Señal de la FID para el ^{13}C del dioxano cuando la frecuencia del impulso coincide con la frecuencia de Larmor. (b) Transformada de Fourier de (a). (Tomado de R. J. Abraham, J. Fisher y P. Loftus, *Introduction to NMR Spectroscopy*, pág. 89. New York: Wiley, 1988. Reproducido con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

cos. El par de carbonos olefínicos es el responsable del pico aislado a la izquierda. Con compuestos que tienen varias líneas de absorción, la FID se complica mucho. Sin embargo, en cada caso la señal de caída en el dominio del tiempo contiene toda la información requerida para producir un espectro de absorción del dominio de la frecuencia mediante la transformación de Fourier.

19A-4. Tipos de espectros RMN

Existen varios tipos de espectros de RMN, en función de la clase de instrumento utilizado, del tipo de núcleo implicado, del estado físico de la muestra, del entorno del núcleo del analito y del uso que se vaya a hacer de los datos. Sin embargo, la mayoría de los espectros de RMN se pueden clasificar como de *línea ancha* o bien de *alta resolución*.

Espectros de líneas anchas

Los espectros de líneas anchas son aquellos en los que la anchura de banda de la fuente de líneas es suficientemente grande como para enmascarar la estructura fina debida al entorno químico. La Figura 19-11 muestra un espectro de líneas anchas que corresponde a una mezcla de varios isótopos. Cada especie se asocia con un solo pico. Los espectros de líneas anchas son útiles para la determinación cuantitativa de isótopos y para estudiar el entorno físico de las especies absorbentes. Los espectros de líneas anchas se obtienen por lo general con campos magnéticos relativamente poco intensos.

Espectros de alta resolución

Los espectros RMN más utilizados son los de *alta resolución*, para cuya obtención se utilizan instrumentos capaces de distinguir diferencias de fre-

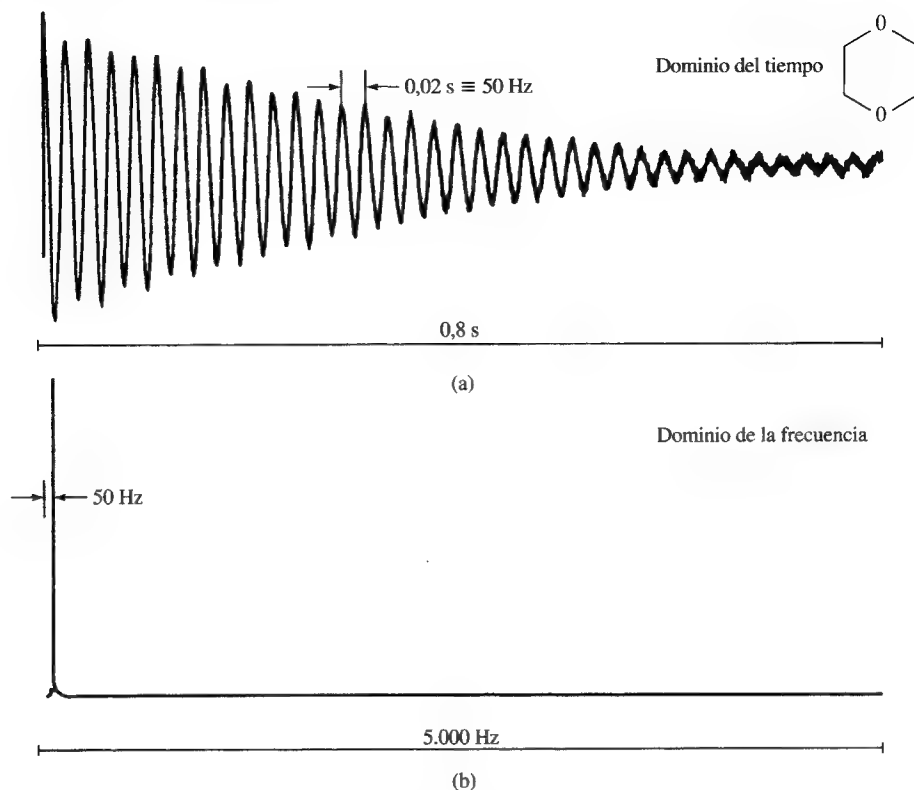


Figura 19-9. (a) Señal de la FID para el ^{13}C del dioxano cuando la frecuencia del impulso difiere de la frecuencia de Larmor en 50 Hz. (b) Transformada de Fourier de (a). (Tomado de R. J. Abraham, J. Fisher y P. Loftus, *Introduction to NMR Spectroscopy*, pág. 90. New York: Wiley, 1988. Reproducido con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

cuencia muy pequeñas del orden de 0,01 ppm o menores. En tales espectros, para un isótopo determinado, se encuentran por lo común varios picos como consecuencia de los efectos del entorno molecular. La Figura 19-12 muestra dos espectros de alta resolución para los protones del etanol. En el espectro superior, se observan tres picos que provienen de la absorción de los protones del CH_3 , CH_2 y OH . Como se muestra en el espectro de más resolución de la Figura 19-12b, dos de los tres picos se pueden resolver en picos adicionales. Los aspectos que se tratan a continuación se refieren exclusivamente a los espectros de alta resolución.

19B. EFECTOS DEL ENTORNO MOLECULAR EN LOS ESPECTROS RMN

La frecuencia de la radiación de RF que se absorbe por un núcleo determinado se ve afectada fuerte-

mente por su entorno molecular, esto es, por los núcleos y electrones vecinos. Como consecuencia de ello, incluso las moléculas más simples proporcionan una abundante información espectral que puede servir para elucidar sus estructuras químicas. La discusión que sigue se centra en los espectros de protón, porque el ^1H ha sido el isótopo más ampliamente utilizado. Sin embargo, los conceptos introducidos se aplican también en muchos casos a los espectros de otros isótopos.

19B-1. Tipos de efectos del entorno

Los espectros del etanol, que se muestran en la Figura 19-12, ilustran dos tipos de efectos del entorno. La curva de la Figura 19-12a, obtenida con un instrumento de baja resolución, muestra tres picos del protón con áreas en la proporción de 1:2:3 (de izquierda a derecha). Tomando como base esta proporción, parece lógico atribuir los picos al hi-

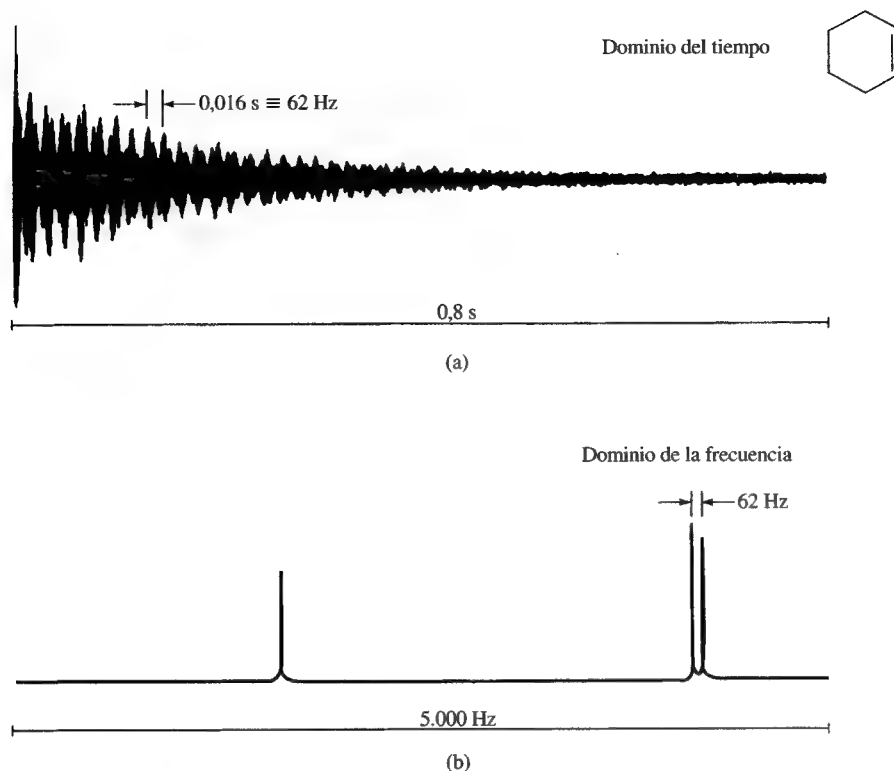


Figura 19-10. (a) Señal de la FID para el ^{13}C del ciclohexeno. (b) Transformada de Fourier de (a). (Tomado de R. J. Abraham, J. Fisher y P. Loftus, *Introduction to NMR Spectroscopy*, pág. 91. New York: Wiley, 1988. Reproducido con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

droxilo, al metileno y al metilo, respectivamente. Otra evidencia confirma esta conclusión; por ejemplo, si el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo se sustituye por deuterio, el primer pico desaparece de esta parte del espectro. Por tanto, se presentan pequeñas diferencias en la frecuencia de absorción

del protón; tales diferencias dependen del grupo al que está unido el átomo de hidrógeno. A este efecto se le denomina *desplazamiento químico*.

El espectro de alta resolución del etanol, mostrado en la Figura 19-12b, revela que dos de los tres picos del protón se desdoblan en picos adicionales. Este efecto secundario del entorno, que se superpone al desplazamiento químico, tiene un origen diferente, y se le denomina *desdoblamiento espín-espín*.

En análisis estructural son importantes ambos efectos: el desplazamiento químico y el desdoblamiento espín-espín. Experimentalmente, los dos se distinguen con facilidad, dado que las separaciones entre picos que resultan del desplazamiento químico son directamente proporcionales a la intensidad del campo o a la frecuencia del oscilador. Así, si el espectro de la Figura 19-12a se hubiera obtenido a 100 MHz en lugar de a 60 MHz, la distancia horizontal entre cualquier grupo de picos se hubiera incrementado por 100/60, como se muestra en la Figura 19-13. En contraste, la distancia entre los

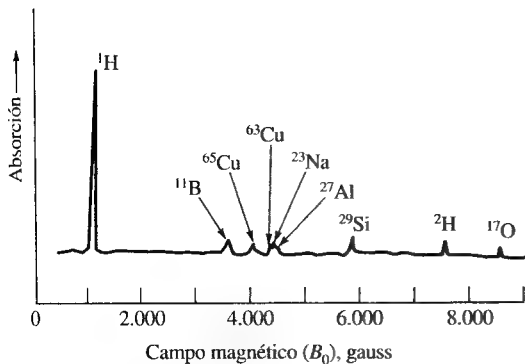


Figura 19-11. Un espectro RMN de baja resolución para el agua en un recipiente de vidrio. Frecuencia = 5 MHz.

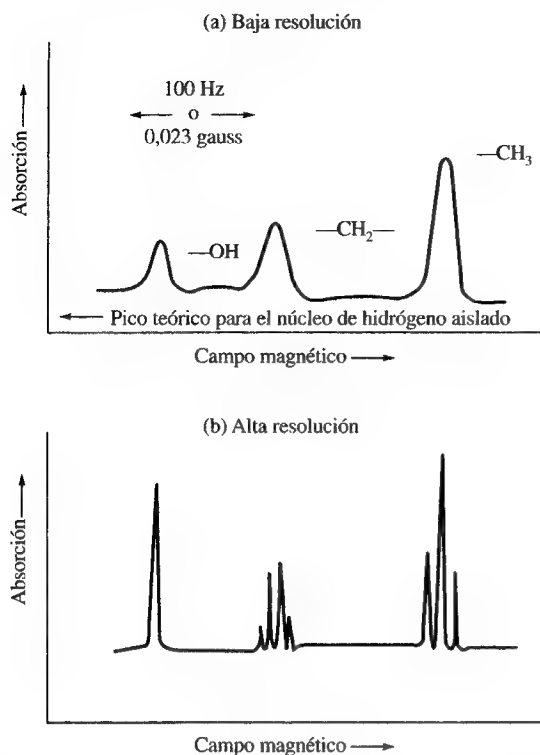


Figura 19-12. Espectros de RMN del etanol a una frecuencia de 60 MHz. Resolución: (a) $\sim 1/10^6$; (b) $\sim 1/10^7$.

picos de la estructura fina dentro de un grupo no se hubiera alterado con este cambio de frecuencia.

Origen del desplazamiento químico

El desplazamiento químico se origina por los pequeños campos magnéticos que se generan debido al movimiento de los electrones alrededor de los núcleos. Estos campos, por lo general, se oponen al campo aplicado. Como consecuencia, los núcleos están expuestos a un campo efectivo que en general es algo menor que el campo externo. La magnitud del campo que se genera internamente es directamente proporcional al campo externo aplicado, por lo que se puede escribir

$$B_{\text{efec}} = B_{\text{apl}} - \sigma B_{\text{apl}} = B_{\text{apl}} (1 - \sigma) \quad (19-13)$$

donde B_{apl} es la intensidad del campo aplicado, y B_{efec} es la intensidad del campo resultante, que determina el comportamiento de resonancia del núcleo. La magnitud σ es la constante de apantallamiento, la cual viene determinada por la densidad de electrones y su distribución espacial alrededor del

núcleo; la densidad electrónica depende de la estructura del compuesto que contiene el núcleo. Sustituyendo la Ecuación 19-5 en la Ecuación 19-13 se obtiene la condición de resonancia en términos de frecuencia. Esto es,

$$\nu_0 = \frac{\gamma}{2\pi} B_{\text{apl}} (1 - \sigma) = k(1 - \sigma) \quad (19-14)$$

donde $k = \gamma B_{\text{apl}} / 2\pi$.

La constante de apantallamiento de los protones en un grupo metilo es mayor que la constante para los protones metilénicos y es incluso menor para los protones en un grupo —OH . Para un núcleo de hidrógeno aislado, la constante de apantallamiento es cero. Así, con objeto de producir resonancia en cualquiera de los protones del etanol a una frecuencia determinada del oscilador ν , es necesario emplear un campo B_{apl} que sea mayor que B_0 (Ecuación 19-13), el valor de resonancia para el protón aislado. Alternativamente, si se mantiene constante el campo aplicado, la frecuencia del oscilador ha de aumentar a fin de producir la condición de resonancia. Puesto que σ difiere para los protones de distintos grupos funcionales, el campo aplicado que se necesita difiere de grupo a grupo. Este efecto se aprecia en el espectro del etanol mostrado en la Figura 19-12a, en el cual el protón del grupo hidroxilo aparece en el campo aplicado más bajo, después los protones metilénicos y finalmente los protones metílicos. Obsérvese que todos estos picos se presentan en un campo aplicado mayor que el teórico para el núcleo de hidrógeno aislado, el cual se encontraría más hacia la izquierda en la Figura 19-12a. Téngase en cuenta, también, que si el campo aplicado se mantuviera constante al nivel necesario para excitar el protón del metilo, sería necesario un aumento de la frecuencia para producir la resonancia en los protones del metileno.

Origen del desdoblamiento espín-espín

El desdoblamiento de los picos de desplazamiento químico tiene lugar cuando el momento magnético de un núcleo interacciona con los momentos magnéticos de los núcleos adyacentes. El campo magnético producido por un núcleo con espín afecta a la distribución de los electrones de sus enlaces con otros núcleos. Este cambio en la distribución electrónica produce entonces cambios en el campo magnético de los núcleos adyacentes y provoca

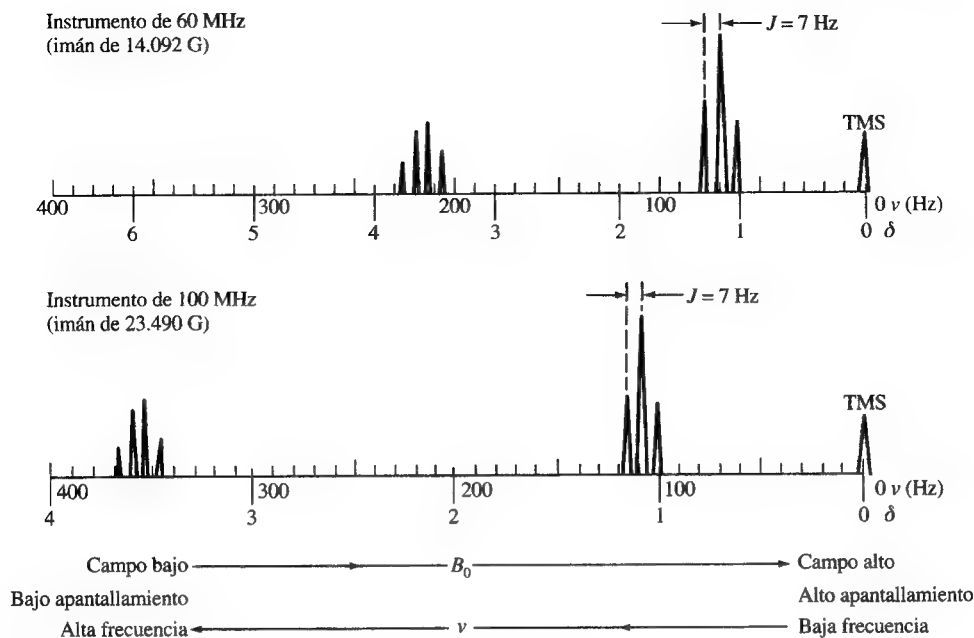


Figura 19-13. Escalas de abscisa en los espectros de RMN.

desdoblamiento de los niveles de energía y por tanto múltiples transiciones. Este acoplamiento magnético de los núcleos que se transmite por medio de los electrones de enlace se denomina, a menudo *interacción de polarización*. Así, la estructura fina del pico del metileno mostrado en la Figura 19-12b puede atribuirse al efecto de los espines de los protones del metilo adyacentes. A la inversa, el desdoblamiento del pico del metilo en tres picos más pequeños se debe a los protones del metileno adyacentes. Estos efectos son independientes del campo aplicado y se superponen a los efectos del desplazamiento químico. El desdoblamiento espín-espín se trata con mucho más detalle en el Apartado 19B-3.

Escala de abscisas en los espectros de RMN

La determinación de la intensidad absoluta del campo magnético con la exactitud necesaria para las medidas de RMN de alta resolución es difícil o imposible. Por otra parte, como se mostrará en el Apartado 19C, es completamente factible determinar la magnitud de un *cambio* en la intensidad del campo con una exactitud de la décima de miligauss o incluso mejor. Por tanto, es conveniente establecer la posición de los picos de absorción de resonancia con relación al pico de resonancia de una

sustancia patrón interno que pueda ser medida durante el experimento. El uso de un patrón interno tiene también la ventaja de que los desplazamientos químicos se pueden establecer independientemente de la frecuencia del oscilador.

El patrón interno que se utiliza depende del núcleo que se estudia y del disolvente empleado. El compuesto más utilizado en general para el estudio del protón es el tetrametilsilano (TMS), $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$. En este compuesto todos los protones son idénticos, y por razones que se considerarán más adelante, la constante de apantallamiento para el TMS es más grande que para la mayoría de los protones. Así, este compuesto proporciona un solo pico agudo a un campo aplicado intenso, bien separado de la mayoría de los picos de interés del espectro. Además, el TMS es inerte, fácilmente soluble en la mayor parte de los líquidos orgánicos y se elimina bien de las muestras por destilación (p. eb. = 27 °C). Por desgracia, el TMS no es soluble en agua; en medios acuosos se utiliza en su lugar la sal de sodio del ácido 2,2-dimetil-2-silapentano-5-sulfónico (DSS), $(\text{CH}_3)_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na}$. Los protones metilo de este compuesto producen un pico virtualmente en la misma posición del espectro que el pico del TMS. Sin embargo, los protones metileno del DSS dan una serie de pequeños picos que pueden interferir. Por este motivo, la mayor parte del DSS que

se comercializa tiene los grupos metileno deutera-dos, lo que permite eliminar estos picos indesea-bles.

A fin de evaluar el desplazamiento químico de un núcleo problema en relación al TMS en térmi-nos cuantitativos cuando se hacen las medidas con una intensidad de campo constante B_0 , se aplica la Ecuación 19-14 a la resonancia de la muestra y del TMS, para obtener

$$\nu_s = k(1 - \sigma_s) \quad (19-15)$$

$$\nu_r = k(1 - \sigma_r) \quad (19-16)$$

donde los subíndices r y s se refieren al TMS de referencia y a la muestra de analito, respectiva-mente. Restando la segunda ecuación de la primera se obtiene

$$\nu_s - \nu_r = k(\sigma_r - \sigma_s) \quad (19-17)$$

Dividiendo esta ecuación por la Ecuación 19-16, a fin de eliminar k , se obtiene

$$\frac{\nu_s - \nu_r}{\nu_r} = \frac{\sigma_r - \sigma_s}{1 - \sigma_r}$$

Generalmente, σ_r es mucho menor que 1. Así, esta ecuación se simplifica a

$$\frac{\nu_s - \nu_r}{\nu_r} = \sigma_r - \sigma_s \quad (19-18)$$

El parámetro del desplazamiento químico δ se de-fine, entonces, como

$$\delta = (\sigma_r - \sigma_s) \times 10^6 \text{ ppm} \quad (19-19)$$

La cantidad δ es adimensional y expresa el despla-zamiento relativo en ppm. Una clara ventaja de este enfoque es que para un pico determinado, δ tendrá el mismo valor con independencia de que el instrumento utilizado sea de 200 o de 500 MHz. La mayor parte de los picos de protones se encuentran en el intervalo de δ comprendido entre 1 y 13 ppm. Para otros núcleos, el intervalo de desplazamientos químicos es mayor debido a los electrones $2p$ aso-ciados. Por ejemplo, los desplazamientos químicos para el ^{13}C en varios grupos funcionales se encuen-tran por lo común en el intervalo de 0 a 220 ppm, pudiendo llegar a 400 ppm o más. Para el ^{19}F , el intervalo de desplazamientos químicos puede lle-

gar hasta 800 ppm, mientras que para el ^{31}P es de 300 ppm o más.

Por lo general, las representaciones gráficas de los espectros RMN tienen escalas lineales en δ , e históricamente los datos se representaban de forma que el campo aumentaba de izquierda a derecha (véase Fig. 19-13). Así, si se emplea el TMS como referencia, su pico aparecerá en el extremo derecho de la gráfica, porque σ para el TMS es bastante grande. Como se ha visto, el valor cero de la escala de δ corresponde al pico de TMS, y el valor de δ aumenta de derecha a izquierda. De nuevo en rela-ción con la Figura 19-13, obsérvese que los distin-tos picos aparecen en el mismo valor de δ a pesar del hecho de que los dos espectros se obtuvieron con instrumentos que tenían campos fijos notable-mente diferentes.

El desdoblamiento espín-espín se da por lo co-mún en unidades de hertzios. Se puede observar en la Figura 19-13 que el desdoblamiento espín-espín en unidades de frecuencia (J) es el mismo con los instrumentos de 60 MHz que con los de 100 MHz. Sin embargo, nótese que el desplazamiento quími-co en *unidades de frecuencia* aumenta cuanto más alta es la frecuencia del instrumento.

19B-2. Teoría del desplazamiento químico

Como se ha indicado anteriormente, los despla-zamientos químicos se deben a los campos magnéti-cos secundarios producidos por la circulación de los electrones en la molécula. Estas corrientes de-nominadas *corrientes diamagnéticas* locales⁷ se inducen por el campo magnético fijo, y originan unos campos secundarios que pueden reducir o aumentar el campo al que un protón en particular responde. Los efectos son complejos, y sólo se consideran aquí los principales aspectos del fenó-meno. Se pueden encontrar tratamientos más com-pletos en varios trabajos de referencia que se listan en la nota 1, a pie de página, al principio de este capítulo.

⁷ La intensidad de magnetización inducida en una sustancia *diamagnética* es menor que la producida en el vacío con el mis-mo campo. El diamagnetismo es el resultado del movimiento inducido en los electrones enlazantes por el campo aplicado; este movimiento, denominado *corriente diamagnética*, crea un campo secundario que se opone al campo aplicado. El *para-magnetismo* y las *corrientes paramagnéticas* resultantes se ma-nifiestan de forma opuesta.

Bajo la influencia del campo magnético, los electrones del enlace con el protón tienden a experimentar una precesión alrededor del núcleo en un plano perpendicular al campo magnético (véase Fig. 19-14). Como consecuencia de este movimiento, se produce un campo secundario que se opone al campo principal; el comportamiento en este caso es análogo al paso de electrones por una espira. El núcleo experimenta entonces un campo resultante, que es menor, se dice que el núcleo está *apantallado* del efecto total del campo principal. Como consecuencia, se debe aumentar el campo externo para producir la resonancia nuclear.

El apantallamiento experimentado por un núcleo dado está directamente relacionado con la densidad de electrones que le rodean. De esta forma, en ausencia de otras influencias, se esperaría que disminuyera el apantallamiento al aumentar la electronegatividad de los grupos adyacentes. Este efecto se manifiesta en los valores δ de los protones en los haluros de metilo, CH_3X , que están en el orden I (2,16), Br (2,68), Cl (3,05) y F (4,26). En este ejemplo, el yodo, el halógeno menos electronegativo, es también el menos efectivo atrayendo los electrones de los protones metílicos; de modo que los electrones del yodo producen el mayor efecto de apantallamiento. Mediante este modelo se explica también la posición de los picos del pro-

tón en el TMS debido a que el silicio es relativamente electropositivo.

Efecto de la anisotropía magnética

A partir de un examen de los espectros de los compuestos que contienen dobles o triples enlaces, resulta evidente que los efectos diamagnéticos locales no bastan para explicar la posición de ciertos picos de protones. Considérese, por ejemplo, la variación irregular en los valores de δ para los protones de los siguientes hidrocarburos, dispuestos por orden de acidez creciente o por la electronegatividad creciente de los grupos a los que están unidos los protones: CH_3-CH_3 ($\delta = 0,9$), $\text{CH}_2=\text{CH}_2$ ($\delta = 5,8$) y $\text{HC}\equiv\text{CH}$ ($\delta = 2,9$). Además, el protón aldehídico RCHO ($\delta \sim 10$) y los protones del benceno ($\delta \sim 7,3$) aparecen a campos mucho más bajos que lo que cabría esperar en relación con la electronegatividad de los grupos a los que están unidos.

Los efectos de los enlaces múltiples sobre el desplazamiento químico pueden explicarse tomando en consideración las propiedades magnéticas anisotrópicas de estos compuestos. Por ejemplo, se ha encontrado que las susceptibilidades magnéticas⁸ de los compuestos aromáticos cristalizados difieren apreciablemente según la orientación del anillo con respecto al campo aplicado. Esta anisotropía se comprende con facilidad a partir del modelo que se ilustra en la Figura 19-15. En este caso, el plano del anillo es perpendicular al campo magnético. En esta posición, el campo puede inducir un flujo de los electrones π alrededor del anillo para crear la denominada *corriente anular*. Una corriente anular es semejante a la corriente en una espira; a saber, se induce un campo secundario que actúa oponiéndose al campo aplicado. Sin embargo, este campo inducido ejerce un efecto magnético sobre los protones unidos al anillo que actúa en la dirección del campo, como se muestra en la Figura 19-15. Así, los protones aromáticos requieren un campo externo menor para que se produzca la resonancia. Este efecto está ausente o se autocancela para otras orientaciones del anillo.

Para los dobles enlaces etilénicos o carbonílicos se puede aplicar un modelo semejante. En tales casos, cuando la molécula se orienta en el campo

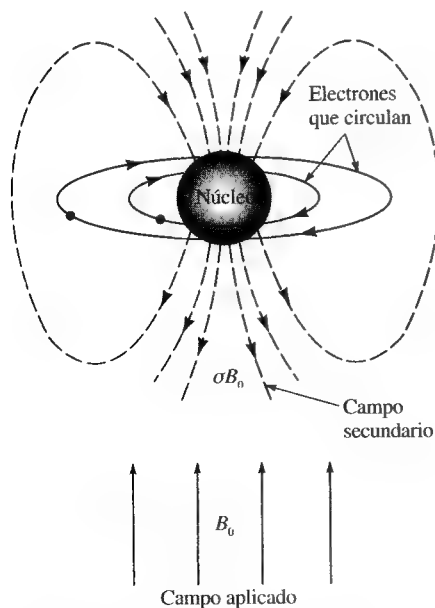


Figura 19-14. Apantallamiento diamagnético de un núcleo.

⁸ La susceptibilidad magnética de una sustancia puede considerarse como el grado en que es susceptible a la magnetización inducida por un campo externo.

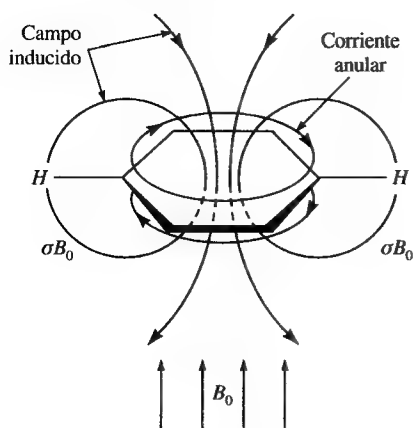


Figura 19-15. Desapantallamiento de los protones aromáticos producido por la corriente anular.

tal como se indica en la Figura 19-16a, se puede imaginar la circulación de los electrones π en un plano a lo largo del eje del enlace. De nuevo, el campo secundario producido actúa sobre el protón reforzando el campo aplicado. Así, el desapantallamiento desplaza el pico a valores más altos de δ . Con un aldehído, este efecto se combina con el desapantallamiento producido por la electronegatividad del grupo carbonilo, lo que conduce a un valor de δ muy grande.

En un enlace acetilénico, la distribución simétrica de los electrones π alrededor del eje del enlace, permite a los electrones circular alrededor del enlace. Por contraste, tal circulación está prohibida por el plano nodal en la distribución electrónica.

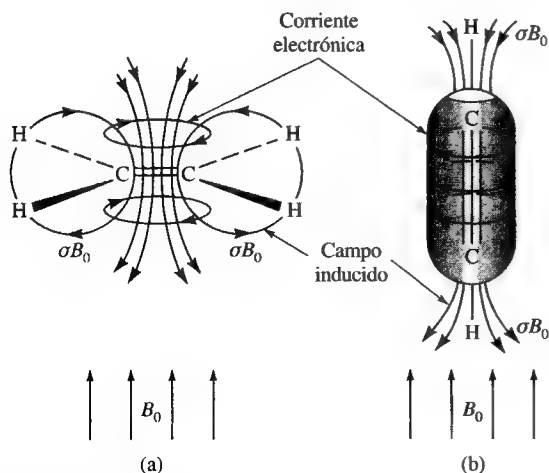


Figura 19-16. Desapantallamiento del etileno y apantallamiento del acetileno producidos por las corrientes electrónicas.

ca de un doble enlace. En la Figura 19-16b, puede observarse que en esta orientación los protones están apantallados. Este efecto es bastante intenso como para contrarrestar el desapantallamiento debido a la acidez de los protones y a las corrientes electrónicas en las orientaciones paralelas al enlace.

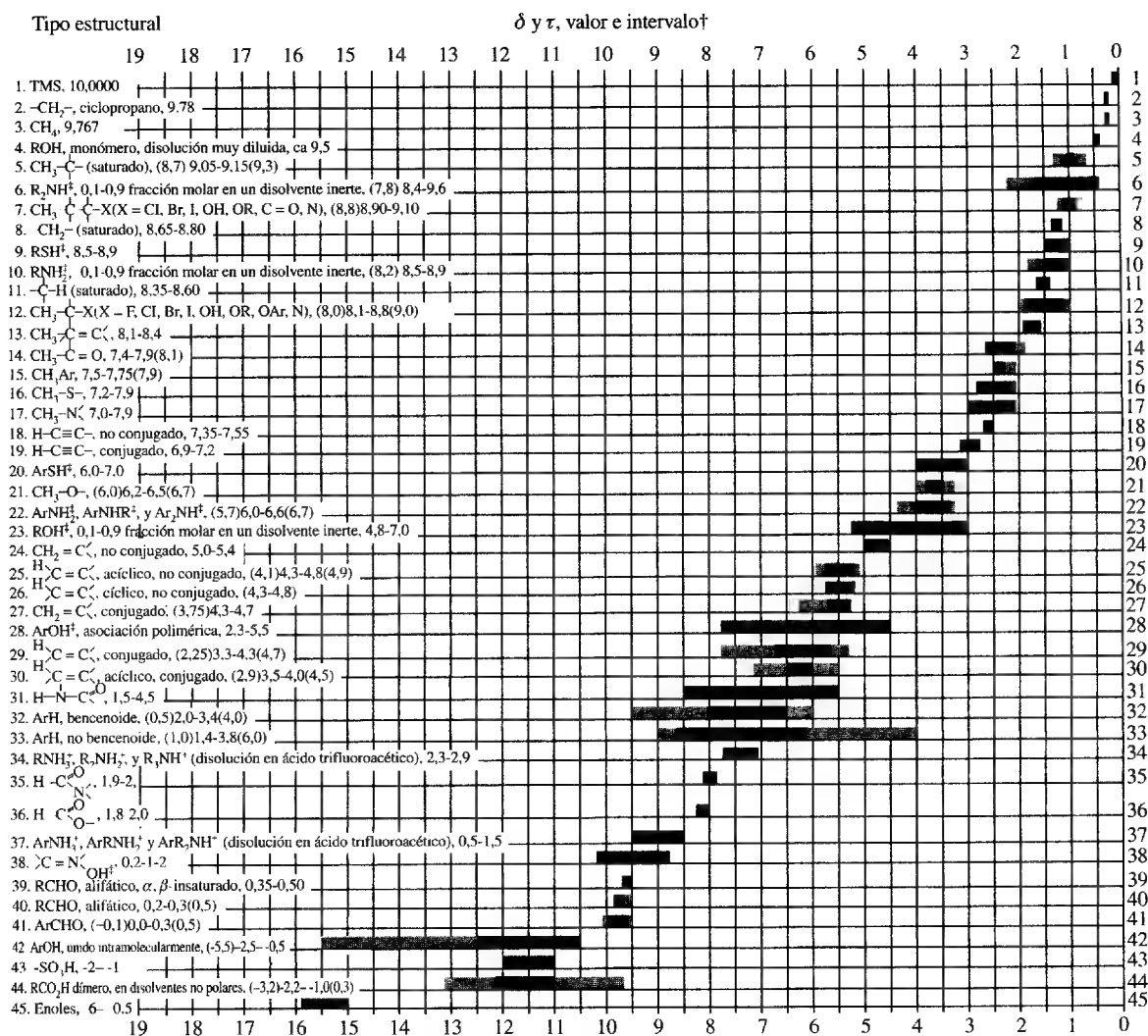
Correlación del desplazamiento químico con la estructura

El desplazamiento químico se utiliza para la identificación de grupos funcionales y como una ayuda para determinar la disposición estructural de los grupos. Estas aplicaciones se basan en las correlaciones empíricas entre la estructura y el desplazamiento. Se han publicado diversas gráficas y tablas de correlación⁹, dos de las cuales se muestran en la Figura 19-17 y en la Tabla 19-2. Debe tenerse en cuenta que los valores exactos de δ dependen de la naturaleza del disolvente y también de la concentración del soluto. Estos efectos son especialmente pronunciados para los protones que participan en un enlace de hidrógeno; un ejemplo excelente de este tipo de espectros es el protón de un grupo funcional alcohol.

19B-3. Desdoblamiento espín-espín

Como puede verse en la Figura 19-12, las bandas de absorción para los protones del metilo y del metileno en etanol, están formadas por varios picos estrechos que de manera rutinaria se pueden separar con un instrumento de alta resolución. Un examen cuidadoso de estos picos muestra que el espaciado de los tres componentes de la banda del metilo es el mismo que el de los cuatro picos de la banda del metileno. Este espaciado medido en hertzios se denomina *constante de acoplamiento* de la interacción y se representa con el símbolo J . Además, en un multiplete la relación entre las áreas de los picos se aproxima a una relación entre números enteros. Así, para el triplete del metilo, la relación de áreas es de 1:2:1; para el cuadruplete de los picos del metileno es de 1:3:3:1.

⁹ R. M. Silverstein, G. C. Bassler y T. C. Morrill. *Spectroscopic Identification of Organic Compounds*, 5.ª ed., Capítulo 4. New York: Wiley, 1991; L. M. Jackman y S. Sternhell, *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 2.ª ed. New York: Pergamon Press, 1969.



† En general, los grupos funcionales relacionados absorberán dentro del intervalo que se indica. En algunas ocasiones el grupo funcional puede absorber fuera de este intervalo. Por este motivo se indican unos límites aproximados para la absorción con valores entre paréntesis y mediante una zona sombreada en la figura.

‡ Las posiciones de absorción de estos grupos dependen de la concentración y en disoluciones más diluidas se desplazan a valores de τ más altos.

Figura 19-17. Posiciones de absorción de los protones en varios entornos estructurales. (Tabla tomada con autorización de J. R. Dyer, Applications of Absorption Spectroscopy by Organic Compounds, pág. 85. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1965.)

Origen

Parece admisible atribuir esas observaciones al efecto que los espines de un conjunto de núcleos ejercen sobre el comportamiento de resonancia de otro. Es decir, hay una débil interacción o acoplamiento entre los dos grupos de protones adyacentes. Los resultados de cálculos teóricos detallados son consistentes con la idea de que el acoplamiento tiene lugar a través de las interacciones entre los núcleos y los electrones del enlace y no a través del

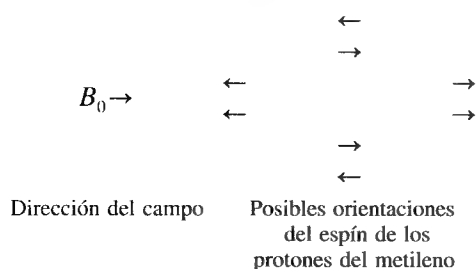
espacio libre. Para nuestros fines un tratamiento detallado del mecanismo resulta innecesario.

Considérese en primer lugar el efecto de los protones del metileno en el etanol sobre la resonancia de los protones del metilo. Debe recordarse que la relación entre los protones en los dos posibles estados de espín es prácticamente la unidad, incluso en un campo magnético intenso. Se puede imaginar, pues, que los protones del metileno de una molécula pueden tener cuatro combinaciones posibles de estados de espín, y que en la muestra entera

TABLA 19-2. Desplazamientos químicos aproximados para los protones de algunos grupos metilo, metileno y metino

Estructura	δ , ppm		
	M = CH ₃	M = CH ₂	M = CH
Sustituyentes alifáticos en α			
M—Cl	3,0	3,5	4,0
M—Br	2,7	3,4	4,1
M—NO ₂	4,3	4,4	4,6
M—OH (o OR)	3,2	3,4	3,6
M—O— ϕ	3,8	4,0	4,6
M—OC(=O)R	3,6	4,1	5,0
M—C=C	1,6	1,9	—
M—C $\equiv$ C	1,7	2,2	2,8
M—C(=O)H	2,2	2,4	—
M—C(=O)R	2,1	2,4	2,6
M—C(=O) ϕ	2,4	2,7	3,4
M—C(=O)OR	2,2	2,2	2,5
M— ϕ	2,2	2,6	2,8
Sustituyentes alifáticos en β			
M—C—Cl	1,5	1,8	2,0
M—C—Br	1,8	1,8	1,9
M—C—NO ₂	1,6	2,1	2,5
M—C—OH (o OR)	1,2	1,5	1,8
M—C—OC(=O)R	1,3	1,6	1,8
M—C—C(=O)H	1,1	1,7	—
M—C—C(=O)R	1,1	1,6	2,0
M—C—C(=O)OR	1,1	1,7	1,9
M—C— ϕ	1,1	1,6	1,8

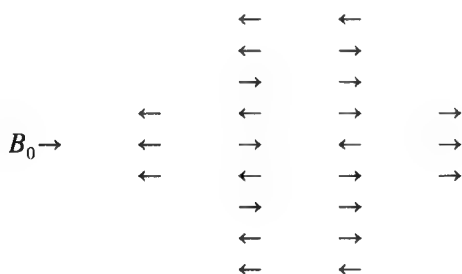
cada una de estas combinaciones estará aproximadamente igual representada. Si se representa la orientación del espín de cada núcleo con una flecha pequeña, los cuatro estados son:



En la primera de las combinaciones a la izquierda, los espines de los protones del metileno están apareados y alineados contra el campo, mientras que en la segunda combinación situada a la derecha los espines apareados están invertidos. También hay dos combinaciones en el centro en las que los espines se oponen el uno al otro. El efecto magnético que se transmite a los protones del metilo en el átomo de carbono adyacente, está determinado por las combinaciones de espines que existen en el grupo metileno en cualquier instante. Si los espines están apareados y opuestos al campo externo, el campo efectivo aplicado sobre los protones del metilo es ligeramente menor; se necesita así un campo algo

más alto para que se produzca la resonancia, lo que origina un desplazamiento a campos más altos. Los espines apareados y alineados con el campo originan un desplazamiento a un campo más bajo. Ninguna de las combinaciones con los espines opuestos tiene efecto alguno sobre la resonancia de los protones del metilo. De este modo, resulta un desdoblamiento en tres picos. El área del pico central es doble con respecto a los otros dos, porque están implicadas dos combinaciones de espines.

Considérese ahora el efecto de los tres protones del metilo sobre el pico del metileno. Las posibles combinaciones de los espines de los protones del metilo son



En este caso, hay ocho combinaciones posibles de espín; sin embargo, entre éstas hay dos grupos que contienen tres combinaciones que producen efectos magnéticos equivalentes. De esta forma, el pico del metileno está desdoblado en cuatro picos cuya relación de áreas es 1:3:3:1. Estos dos ejemplos de grupos metilo y metileno adyacentes en el metanol sugieren la regla general de que el número de picos en una banda desdoblada en un espectro de primer orden es igual al número n de protones equivalentes magnéticamente¹⁰ en los átomos vecinos más uno. El número de tales picos se conoce como *multiplicidad*.

La interpretación de los modelos de desdoblamiento espín-espín es relativamente sencilla y directa para los espectros de *primer orden*. Los espectros de primer orden son aquellos en que el desplazamiento químico entre los grupos de núcleos que interaccionan es grande con respecto a su constantes de acoplamiento J . Un comportamiento de primer orden riguroso requiere que J/δ sea menor que 0,05. Sin embargo, por lo general es posible realizar el análisis de los espectros con técnicas

de primer orden hasta valores de $J/\Delta\nu$ algo superiores a 0,1. El espectro del etanol que se muestra en la Figura 19-13 es un ejemplo de un espectro de primer orden puro, con valores de 7 Hz para J en los picos del metilo y del metileno, siendo la separación entre los centros de los dos multipletes de unos 140 Hz.

La interpretación de los espectros de RMN de segundo orden es relativamente complicada, y no se tratará en este texto. Sin embargo, obsérvese que al aumentar el campo magnético δ aumenta, mientras que J no lo hace; por ello, los espectros obtenidos con un instrumento de elevado campo magnético se interpretan más fácilmente que los producidos con un espectrómetro de imán débil.

Reglas para la interpretación de los espectros de primer orden

Las siguientes reglas determinan la apariencia de los espectros de primer orden.

1. Los núcleos equivalentes no interaccionan entre sí para dar picos de absorción múltiples. Los tres protones del grupo metilo en el etanol solamente originan el desdoblamiento de los protones del metileno adyacente, y no de sí mismos.
2. Las constantes de acoplamiento disminuyen significativamente con la separación de los grupos, y raras veces se observa acoplamiento a distancias mayores que cuatro longitudes de enlace.
3. La multiplicidad de una banda se determina por el número n de protones equivalentes magnéticamente en los átomos vecinos, y viene dada por $n + 1$. De este modo, la multiplicidad de la banda del metileno en el etanol está determinada por el número de protones en los grupos metilo adyacentes, y es igual a $3 + 1 = 4$.
4. Si los protones unidos al átomo B están afectados por los protones de los átomos A y C que no son equivalentes, la multiplicidad de B es igual a $(n_A + 1)(n_C + 1)$, donde n_A y n_C son el número de protones equivalentes de A y C, respectivamente.
5. Las áreas relativas aproximadas de un multiplete son simétricas alrededor del punto medio de la banda y son proporcionales a los coeficientes de los términos la serie $(x + 1)^n$. La aplicación de esta regla se muestra en la Tabla 19-3 y en los ejemplos que siguen.

¹⁰ Los protones equivalentes magnéticamente son aquellos que tienen idénticos desplazamientos químicos e idénticas constantes de acoplamiento.

TABLA 19-3. Intensidades relativas de los multipletes de primer orden ($I = 1/2$)

Número de protones equivalentes, n	Multiplicidad, $(n + 1)$	Áreas de pico relativas									
0	1	1									
1	2	1 1									
2	3	1 2 1									
3	4	1 3 3 1									
4	5	1 4 6 4 1									
5	6	1 5 10 10 5 1									
6	7	1 6 15 20 15 6 1									
7	8	1 7 21 35 35 21 7 1									

6. La constante de acoplamiento es independiente del campo aplicado; así, los multipletes se distinguen con facilidad de los picos de desplazamiento químico poco separados, registrando los espectros a dos intensidades de campo diferentes.

- (c) $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCH}_3$. Los protones del metilo de la derecha están separados de los otros protones por más de tres enlaces, por ello originarán un solo pico. Los protones del grupo metileno central tienen una multiplicidad de $3 + 1 = 4$ y una relación de 1:3:3:1. Los protones del metilo de la izquierda tienen una multiplicidad de $2 + 1 = 3$ y una relación de áreas de 1:2:1.

EJEMPLO 19-3

Para cada uno de los siguientes compuestos, calcular el número de multipletes de cada banda y sus áreas relativas.

- (a) $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$. La multiplicidad de la banda asociada con los cuatro protones equivalentes de los dos extremos de la molécula se determinaría por el número de protones sobre el átomo central; así, la multiplicidad sería $2 + 1 = 3$, y las áreas están en la relación 1:2:1. La multiplicidad de los dos protones del metileno central está determinada por los cuatro protones equivalentes en los extremos, y es $4 + 1 = 5$. El desarrollo de la serie $(x + 1)^4$ da los siguientes coeficientes (Tabla 19-3), que son proporcionales a las áreas de los picos, 1:4:6:4:1.
- (b) $\text{CH}_3\text{CHBrCH}_3$. La banda correspondiente a los seis protones metilo estará constituida por $(1 + 1) = 2$ picos que tienen una relación de áreas de 1:1; el protón sobre el átomo de carbono central tiene una multiplicidad de $6 + 1 = 7$. Estos picos tienen unas áreas en la relación de 1:6:15:20:15:6:1 (Tabla 19-3).

Los ejemplos anteriores son relativamente simples porque todos los protones que influyen en la multiplicidad de cualquiera de los picos son magnéticamente equivalentes. Cuando dos o más protones no equivalentes afectan a un grupo de protones determinado, entonces resulta un modelo de desdoblamiento más complicado. Por ejemplo, considérese el espectro del 1-yodopropano, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{I}$. Si se designa a los tres átomos de carbono como (a), (b) y (c) de izquierda a derecha, las bandas de desplazamiento químico se encuentran a $\delta_{(a)} = 1,02$, $\delta_{(b)} = 1,86$ y $\delta_{(c)} = 3,17$. La banda en $\delta_{(a)} = 1,02$ se desdoblará por los dos protones metileno de (b) en $2 + 1 = 3$ picos con unas áreas relativas de 1:2:1. Para la banda en $\delta_{(c)} = 3,17$ se observará un desdoblamiento semejante. Las constantes de acoplamiento experimentales para los dos desplazamientos son $J_{(ab)} = 7,3$ y $J_{(bc)} = 6,8$. La banda de los protones del metileno de (b) está afectada por dos grupos de protones, que no son magnéticamente equivalentes, lo que es evidente considerando la diferencia entre $J_{(ab)}$ y $J_{(bc)}$. De acuerdo con la regla 4, el número de picos es $(3 + 1)(2 + 1) = 12$.

En casos como éste, es útil desarrollar un modelo de desdoblamiento como el que se muestra en la Figura 19-18. En este ejemplo, se muestra primero el efecto del protón (a) que conduce a cuatro picos con áreas relativas de 1:3:3:1 y separados por 7,3 Hz. Cada uno de éstos se desdobla luego en tres nuevos picos espaciados por 6,8 Hz, y con áreas relativas de 1:2:1. Se produce el mismo desdoblamiento si las bandas originales se desdoblan primero en un triplete. Con una resolución muy alta el espectro del 1-yodopropano presenta una serie de picos muy parecida a la que se muestra en la parte inferior de la Figura 19-18. Con resolución tan baja que el instrumento no detecte la diferencia entre $J_{(ab)}$ y $J_{(bc)}$, sólo se observan seis picos con áreas relativas de 1:5:10:10:5:1.

Espectros de segundo orden

Las constantes de acoplamiento suelen ser menores de 20 Hz, mientras que los desplazamientos químicos pueden llegar a ser de miles de Hz. Por consiguiente, las reglas descritas en la sección anterior para explicar el desdoblamiento suelen ser de aplicación general. Sin embargo, cuando J/δ se hace mayor que aproximadamente de 0,1 a 0,15, ya no se aplican esas reglas. Generalmente, cuando δ se aproxima a J , los picos interiores del mutiplete tienden a aumentar a expensas de los picos exterior-

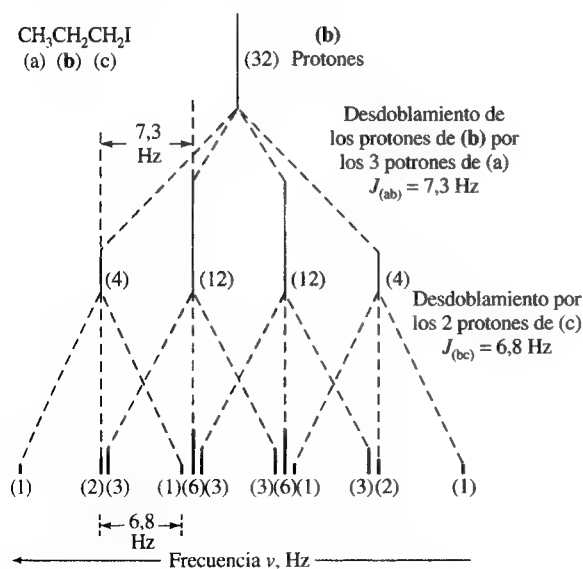


Figura 19-18. Desdoblamiento de los protones del metileno de (b) en el $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{I}$. Las cifras entre paréntesis son las áreas relativas de los picos.

res, y de esta forma se pierde la simetría de cada multiplete, tal como se ha subrayado anteriormente. Además, aparecen más líneas y a veces muchas más, de forma que el espaciado entre las líneas ya no se corresponde con las constantes de acoplamiento. En estas circunstancias se hace difícil el análisis de un espectro.

Efecto del intercambio químico en los espectros

Volviendo de nuevo al espectro RMN del etanol (Figura 19-12), es interesante considerar por qué el protón del OH aparece como un singulete y no como un triplete. Los protones del metileno y el protón del OH están separados sólo por tres enlaces por lo que el acoplamiento debería aumentar la multiplicidad de los picos del OH y del metileno. Realmente, tal como se muestra en la Figura 19-19, puede observarse la esperada multiplicidad empleando una muestra altamente purificada del alcohol. Nótese en este espectro los picos del triplete del OH y los ocho picos del metileno. Si se añaden ahora trazas de ácido o de base a la muestra pura, el espectro vuelve a tener el aspecto mostrado en la Figura 19-12.

El intercambio de los protones del OH entre las moléculas de alcohol se sabe que está catalizado por ácidos y por bases, así como por las impurezas que normalmente contiene el alcohol. Por tanto, es factible asociar el desacoplamiento observado en presencia de estos catalizadores al proceso de intercambio. Si el intercambio es rápido, cada grupo OH tendrá varios protones asociados con él durante un breve período y en este intervalo de tiempo, to-

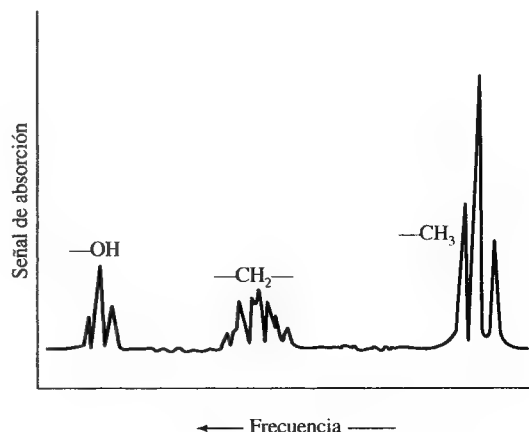


Figura 19-19. Espectro de etanol altamente purificado mostrando el desdoblamiento adicional de los picos del OH y del CH_2 (compárese con Fig. 19-12).

dos los protones OH experimentarán los efectos de las tres disposiciones de espín de los protones del metileno. De este modo, los efectos magnéticos sobre el protón alcohólico se promedian y se observa un solo pico agudo. Siempre se produce desacoplamiento de espines cuando la frecuencia de intercambio es mayor que la separación en unidades de frecuencia entre los componentes que interaccionan.

El intercambio químico puede afectar no sólo a los espectros espín-espín sino también a los espectros de desplazamiento químico. Las mezclas de agua y alcohol purificado tienen dos picos del protón del OH bien definidos y claramente separados. Sin embargo, cuando se añade ácido o base a la mezcla, los dos picos se unen formando una sola línea aguda. En este caso, el catalizador aumenta la velocidad del intercambio de protones entre el alcohol y el agua, y así promedia el efecto de apantallamiento. Cuando la velocidad de intercambio es significativamente mayor que la frecuencia de separación de las líneas del alcohol y del agua, se obtiene sólo una línea aguda. Por otra parte, si la frecuencia de intercambio es aproximadamente la misma que la diferencia de frecuencias, el apantallamiento solo es promediado parcialmente, con lo que resulta una línea ancha. La correlación de la anchura de la línea con las velocidades de intercambio ha proporcionado un medio directo para el estudio de la cinética de dichos procesos, y constituye una importante aplicación experimental de la RMN. Tales estudios se llevan a cabo frecuentemente registrando los espectros a diferentes temperaturas y determinando la temperatura a la que los multipletes se funden en una sola banda. Con esta información, se pueden calcular la energía de activación y otros parámetros termodinámicos y cinéticos del proceso de intercambio y se pueden investigar los mecanismos del mismo¹¹.

19B-4. Técnicas de doble resonancia

Los experimentos de doble resonancia incluyen un grupo de técnicas en las que la muestra se irradia simultáneamente con dos o más señales de radiofrecuencia. Estos métodos son: *el desacoplamiento de espín, el efecto nuclear Overhauser, el cosquileo de espín, y la resonancia internuclear*

doble. Estos procedimientos se utilizan como una ayuda para la interpretación de los espectros RMN complejos, y para aumentar la información que se puede obtener de ellos¹². En esta sección sólo se describe la primera de esas técnicas, el desacoplamiento de espín. El efecto nuclear Overhauser se trata brevemente en el Apartado 19E-1.

La Figura 19-20 ilustra la simplificación espectral que acompaña al *desacoplamiento homonuclear de espín*, que es el desacoplamiento que se va a producir entre núcleos similares. El espectro *B* muestra la absorción asociada con los cuatro protones del anillo de piridina de la nicotina. El espectro *C* se obtuvo analizando la misma porción del espectro a la vez que se irradiaba simultáneamente la muestra con una segunda señal de radiofrecuencia con una frecuencia de alrededor de 8,6 ppm, que corresponde a un desplazamiento químico centrado en los picos de absorción de los protones (c) y (d). La intensidad de la segunda señal es suficiente como para causar la saturación de la señal de esos protones. La consecuencia es un desacoplamiento de la interacción entre los protones (c) y (d) y los protones (a) y (b). En este caso, los espectros de absorción complejos de (a) y (b) se unen para dar dos picos de dobletes, que provienen del acoplamiento entre estos protones. Análogamente, los espectros para (c) y (d) se simplifican por desacoplamiento con una señal cuya frecuencia corresponde a los picos de los protones (a) y (b). El desacoplamiento heteronuclear, que es el desacoplamiento de la interacción entre núcleos no similares, se consigue con facilidad con la instrumentación de RMN moderna. El ejemplo más importante se encuentra en la RMN de ¹³C, donde la técnica se utiliza para simplificar los espectros por desacoplamiento de protones (Apartado 19E-1).

19C. ESPECTRÓMETROS DE RMN

Los espectrómetros de RMN que se comercializan son de dos tipos: *espectrómetros de líneas anchas y espectrómetros de alta resolución*¹³. Los instrumentos de líneas anchas tienen imanes con intensidades de unas pocas décimas de tesla y son consi-

¹¹ R. S. Drago, *Physical Methods for Chemists*, 2.^a ed. Capítulo 8, pág. 290. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1992.

¹² Para un tratamiento más detallado de los métodos de doble resonancia, véase cualquiera de las monografías listadas en la nota 1 a pie de página.

¹³ Para una descripción de los espectrómetros de RMN disponibles en el comercio, véase: D. Noble, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 559A.

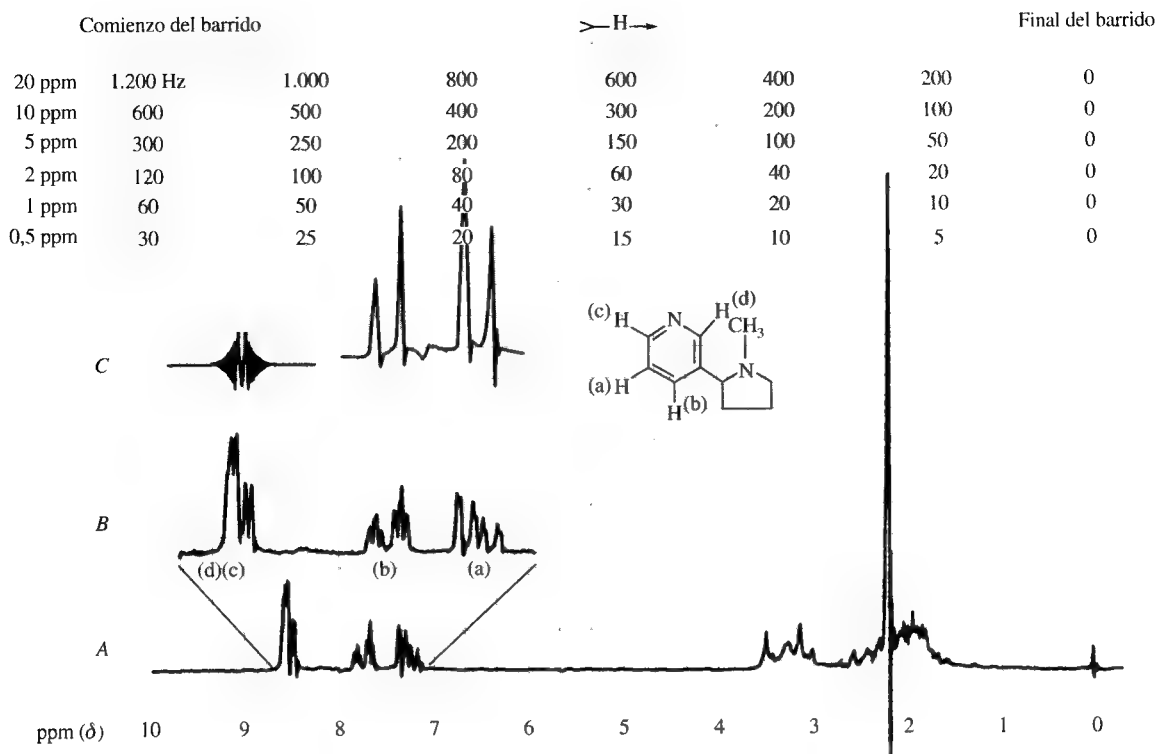


Figura 19-20. Efecto del desacoplamiento de espín en el espectro de RMN de la nicotina disuelta en CDCl_3 . La curva A corresponde al espectro completo. La curva B es el espectro expandido para los cuatro protones del anillo de piridina. La curva C es el espectro de los protones (a) y (b) cuando se desacoplan de (d) y (c) al irradiar con un segundo haz de una frecuencia que corresponde a unos 8,6 ppm. (Cortesía de Varian Instrument Division, Palo Alto, CA 94303.)

derablemente más simples y más baratos que los instrumentos de alta resolución. Los instrumentos de alta resolución emplean imanes con intensidades que oscilan entre 1,4 y 14 T, que corresponden a frecuencias de protón de 60 a 1.000 MHz. Antes de aproximadamente 1970, los espectrómetros de RMN de alta resolución eran todos de onda continua y usaban imanes permanentes o electroimanes para producir el campo magnético. Este tipo de instrumentos ha sido ampliamente sustituido por los espectrómetros de transformada de Fourier en los que el campo magnético lo proporcionan unos solenoides superconductores. Los ordenadores son una parte integral de estos instrumentos, que digitalizan y almacenan la señal, realizan la transformación de Fourier de la FID para proporcionar la señal en el dominio de la frecuencia, y proporcionan muchos otros tratamientos de datos y control de las funciones del instrumento. Los instrumentos de transformada de Fourier se han popularizado tanto principalmente porque permiten un promediado eficiente de la señal con lo que se obtiene

una mayor sensibilidad (véase el Apartado 5C-2 y 16C-1). Como consecuencia de este aumento de sensibilidad, se han generalizado las aplicaciones de rutina de la RMN para el ^{13}C de origen natural, los protones al nivel de microgramos y otros núcleos como el flúor, el fósforo y el silicio.

Los instrumentos de transformada de Fourier son considerablemente más caros que los de onda continua, con un coste mínimo de 100.000 dólares hasta 1.000.000 de dólares o más. A pesar de esta diferencia de precio, los espectrómetros de transformada de Fourier dominan actualmente el mercado hasta el punto de excluir a los instrumentos de onda continua. Por este motivo, trataremos mayormente de los instrumentos con transformada de Fourier.

19C-1. Componentes de los espectrómetros de transformada de Fourier

La Figura 19-21 es un diagrama de bloques simplificado que muestra los componentes de un espec-

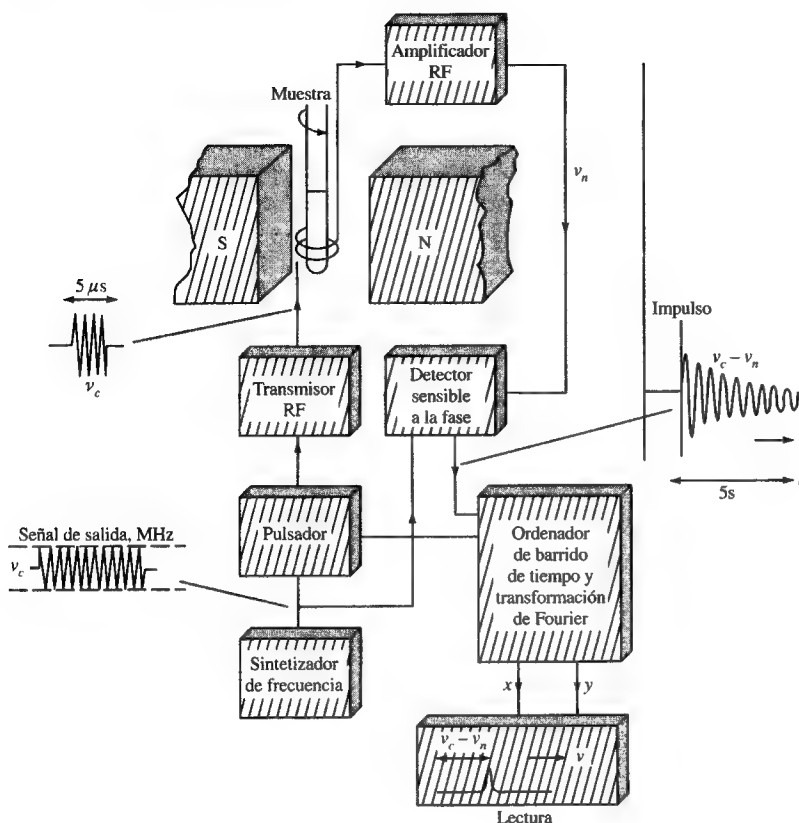


Figura 19-21. Diagrama de bloques de un espectrómetro de RMN con transformada de Fourier.

trómetro característico de RMN con transformada de Fourier. El componente central del instrumento es un imán de gran estabilidad en el que se coloca la muestra que se rodea por una bobina transmisora/receptora.

La radiación de radio frecuencia se produce mediante un cristal sintetizador de frecuencia controlada con una frecuencia de salida ν_c . Esta señal pasa por un interruptor pulsador y un amplificador de potencia, lo que origina un impulso de radiación de radiofrecuencia intenso y reproducible en la bobina transmisora. La radiación de RF resultante incide en la muestra que está contenida en el interior de la bobina. La duración, amplitud, forma y fase del impulso, son seleccionados por el operador, se introducen en la consola y se controlan mediante un ordenador. En la Figura 19-21 se muestra un impulso de $5 \mu s$ de duración. La señal de FID que resulta es recogida por la misma bobina que ahora sirve como receptor. La señal es amplificada y se transmite a un detector sensible a la fase. Los circuitos del detector determinan la diferencia entre las señales nucleares ν_n y la señal de salida del cris-

tal oscilador ν_c , lo que origina la señal de dominio del tiempo de baja frecuencia que se muestra en la parte derecha de la figura. Esta señal se digitaliza y se almacena en un ordenador para realizar su análisis mediante el programa de transformada de Fourier y otros softwares de análisis de datos. La señal de salida tras este tratamiento se representa, obteniéndose un espectro de dominio de la frecuencia.

19C-2. Imanes

El componente principal de los instrumentos de RMN tanto de onda continua como de transformada de Fourier es el imán. La sensibilidad y la resolución de ambos tipos de espectrómetros dependen críticamente de la intensidad y calidad de sus imanes (véase Ejemplo 19-2 y Fig. 19-13). Puesto que tanto la sensibilidad como la resolución aumentan con el aumento de la intensidad del campo, resulta ventajoso operar a la mayor intensidad de campo posible. Además, el campo debe ser muy homogéneo y reproducible. Estos requisitos convierten al

imán en el componente más caro, con diferencia, de un espectrómetro de RMN.

En los espectrómetros de RMN se han utilizado tres tipos de imanes: imanes permanentes, electroimanes convencionales y solenoides superconductores. Actualmente, los electroimanes convencionales rara vez se incorporan a los instrumentos de RMN. En el pasado se han utilizado imanes permanentes con intensidades de campo de 0,7; 1,4 y 2,1 T en instrumentos comerciales de onda continua, que corresponden a frecuencias de resonancia para el protón de 30, 60 y 90 MHz. Los imanes permanentes son muy sensibles a la temperatura, y como consecuencia requieren un buen aislamiento y una eficaz termostatación. Debido a los problemas de deriva del campo, los imanes permanentes no son los más adecuados para usarse con períodos prolongados de recogida de datos, como los que a menudo se emplean en los experimentos con transformada de Fourier.

En los instrumentos de alta resolución más modernos se utilizan los imanes superconductores. Estos imanes alcanzan campos de hasta 21 T, que corresponden a una frecuencia de resonancia protónica de 900 MHz. Para que el solenoide que es un enrollamiento de alambre de niobio/estaño o niobio/titanio se mantenga superconductor, está sumergido en helio líquido a la temperatura de 4 K. El vaso dewar de helio líquido se mantiene dentro de un vaso dewar externo de nitrógeno líquido. La mayoría de los sistemas de imán superconductor se han de rellenar con nitrógeno líquido cada 10 días y con helio líquido cada 80 a 130 días. En comparación con un electroimán, las ventajas de los solenoides superconductores, además de sus elevadas intensidades de campo, son su gran estabilidad, su bajo coste de funcionamiento, su sencillez y su pequeño tamaño.

Las especificaciones de funcionamiento del imán de un espectrómetro son muy rigurosas. El campo generado dentro de la zona de la muestra ha de ser homogéneo y no debe variar más de unas pocas partes por billón ($\times 10^{-9}$) y ha de ser estable en un grado similar durante el tiempo necesario para recoger los datos de la muestra. Por desgracia, la estabilidad inherente a la mayoría de los imanes, es considerablemente menor que la que se precisa, y se observan con frecuencia variaciones que pueden llegar a ser de una parte en 10^7 en una hora. Para compensar tanto la deriva como la falta de homogeneidad del campo, en los modernos instrumentos de RMN se utilizan distintos recursos.

Fijación (lock) del campo magnético

A fin de compensar el efecto de las fluctuaciones del campo, en los instrumentos comerciales de RMN se emplea un *sistema de fijación (lock) campo/frecuencia*. En este sistema, se irradia continuamente un núcleo de referencia y se sigue su respuesta a una frecuencia que corresponde a su máximo de resonancia a la intensidad de campo aplicada del imán. Los cambios en la intensidad de la señal de absorción de referencia controlan un circuito de realimentación, la salida del cual se aplica a las bobinas del imán para de este modo corregir la deriva. Téngase en cuenta que para un tipo de núcleo dado, la relación entre la intensidad del campo y las frecuencias de resonancia es una constante, *independientemente del núcleo implicado* (Ecuación 19-5). De esta forma, la corrección de la deriva para la señal de referencia es aplicable a las señales de todos los núcleos presentes en la zona de la muestra. En los espectrómetros modernos, la señal de referencia la proporciona el deuterio del disolvente, y una segunda bobina transmisora sintonizada a la frecuencia del deuterio monitoriza la referencia. La estabilidad de la mayoría de los imanes superconductores modernos es tan buena que se pueden obtener los espectros sin necesidad de aplicar el sistema de fijación (lock) durante períodos de 1 a 20 min.

Compensación (*shimming*)

Las bobinas de compensación son pares de helicoides de alambre a través de los cuales pasan corrientes cuidadosamente controladas, que producen pequeños campos magnéticos que compensan la heterogeneidad del campo magnético principal. En los instrumentos más antiguos, se utilizaban varios potenciómetros para ajustar manualmente las corrientes en los diversos pares de bobinas. Debido a la interacción entre las bobinas, la compensación era una experiencia tediosa y que a veces no conseguía su objetivo. En los instrumentos actuales, los controles de compensación están a menudo gobernados por ordenador, mediante diversos algoritmos que permiten optimizar la homogeneidad del campo. Por lo general, la compensación se lleva a cabo cada vez que una nueva muestra se introduce en el espectrómetro. Las bobinas de compensación no se muestran en el diagrama simplificado de la Figura 19-21.

Rotación de la muestra

Los efectos de la heterogeneidad del campo se pueden también contrarrestar por la rotación de la muestra en torno a su eje longitudinal. La rotación se consigue mediante una pequeña turbina de plástico que se ajusta sobre el tubo de la muestra. Una corriente de aire mueve la turbina a una velocidad de 20 a 50 revoluciones por segundo. Si esta frecuencia es mucho mayor que la dispersión de frecuencias causada por las heterogeneidades magnéticas, los núcleos experimentan un entorno promediado que hace que las dispersiones aparentes de frecuencia tiendan a cero. Una pequeña desventaja de la rotación es que el campo magnético se modula a la frecuencia de rotación, lo que puede conducir a *bandas laterales*, o *bandas laterales giratorias*, a cada lado de los picos de absorción.

19C-3. Sonda de la muestra

Un componente clave de los espectrómetros de RMN es la sonda de la muestra, la cual tiene múltiples funciones. Mantiene la muestra en una posición fija dentro del campo magnético, contiene una turbina de aire para rotar la muestra, y aloja la bobina o bobinas que permiten la excitación y la detección de la señal de RMN. Además, la sonda por lo común contiene otras dos bobinas transmisoras, una para el sistema de control y la otra para los experimentos de desacoplamiento que se tratan en el Apartado 19E-1. Por último, la mayoría de las sondas pueden trabajar a temperatura variable. Las cubetas de muestra usuales para RMN consisten en un tubo de vidrio de 5 mm de diámetro externo y con una capacidad de aproximadamente 0,4 mL de líquido. También existen microtubos para volúmenes de muestra más pequeños y tubos mayores para aplicaciones especiales.

Bobinas de transmisión/recepción

Los primeros instrumentos de RMN contenían bobinas separadas montadas perpendicularmente para producir el impulso de excitación y para detectar la señal de RMN generada. Estos *detectores de bobinas perpendiculares* se han sustituido por la sonda de bobina única que se muestra en la Figura 19-21, dado que este diseño es más simple y más eficaz.

El generador de impulsos. Los generadores de radiofrecuencia y los sintetizadores de frecuencia producen una señal que consta esencialmente de una sola frecuencia. Sin embargo, para obtener los espectros de transformada de Fourier, la muestra se ha de irradiar con un intervalo de frecuencias suficientemente grande para excitar a los núcleos con diferentes frecuencias de resonancia. Afortunadamente, un impulso de radiación suficientemente corto, tal como el que se muestra en la Figura 19-5, proporciona una banda relativamente ancha de frecuencias centradas alrededor de la frecuencia del oscilador. El intervalo de frecuencias de esta banda es aproximadamente de $1/(4\tau)$ Hz, donde τ es la duración en segundos de cada impulso. Así, un impulso de $1\ \mu\text{s}$ procedente de un oscilador de 100 MHz produce un intervalo de frecuencia de $100\text{ MHz} \pm 125\text{ kHz}$. La producción de una banda de frecuencias a partir de un impulso estrecho puede comprenderse si se observa la Figura 6-6 (página 128), donde se muestra que una onda de forma rectangular es sintetizada a partir de ondas seno y coseno que difieren entre sí en pequeños incrementos de frecuencia. A la inversa, el análisis de Fourier de una onda de forma cuadrada revela que esta consta de un amplio intervalo de componentes de frecuencia. De hecho, tanto más estrecha es la onda cuadrada más amplio es el intervalo de sus frecuencias componentes. Si la forma de la onda pudiese ser infinitamente estrecha, en principio constaría de *todas* las frecuencias. De este modo, un impulso estrecho generado conectando y desconectando con rapidez un oscilador de radiofrecuencia, constará de una banda de frecuencias capaz de excitar todos los núcleos de interés cuya resonancia se produce en las cercanías de la frecuencia del oscilador.

Como se indica en la Figura 19-21, un generador de impulsos característico está formado por tres partes; un sintetizador de frecuencia, una compuerta cuya función es iniciar y finalizar el impulso en un tiempo adecuado, y un amplificador de potencia que amplifica el impulso hasta unos 50 o 100 W.

El sistema receptor. Los voltajes generados en la bobina cuando actúa como detector están en el intervalo de los nanovoltios a los microvoltios y, por tanto, se han de amplificar a un intervalo aproximado de 0 a 10 V antes de que la señal pueda procesarse y digitalizarse. La primera etapa de amplificación por lo general tiene lugar en un

preamplificador, el cual se instala en la sonda tan próximo a la bobina receptora como sea posible para minimizar el efecto del ruido de otras partes del instrumento. Luego se amplifica de nuevo en un amplificador de RF externo como se indica en la Figura 19-21.

19C-4. El detector y el sistema de procesamiento de los datos

En el detector mostrado en la Figura 19-21, la señal de radio de alta frecuencia se convierte primero en una señal de audiofrecuencia que es mucho más fácil de digitalizar. La señal del amplificador de radiofrecuencia se puede imaginar como si estuviera constituida por dos componentes: una *señal portadora*, que tiene la frecuencia del oscilador utilizado para producirla, y una señal superpuesta de RMN del analito. La señal del analito difiere en frecuencia de la portadora en unas pocas partes por millón. Por ejemplo, los desplazamientos químicos en un espectro de protón abarcan normalmente unas 10 ppm. Así, los datos de RMN de protón generados por un espectrómetro de 200 MHz estarían en el intervalo de frecuencia de 200.000.000 a 200.002.000 Hz. No resulta práctico digitalizar señales de frecuencia tan elevada ni extraer de las señales digitalizadas las pequeñas diferencias atribuibles a la muestra; por ello, la frecuencia portadora ν_c se resta electrónicamente de la señal de fre-

cuencia del analito ν_n en el dominio analógico. En el ejemplo, este proceso conduciría a una señal $(\nu_n - \nu_c)$, que se encuentra dentro del intervalo de audiofrecuencias de 0 a 2.000 Hz. Este proceso es idéntico a la forma en que los aparatos de radio domésticos separan las señales de audio de la señal de radiofrecuencia portadora.

Muestreo de la señal de audio

La señal de audio sinusoidal, que se obtiene después de restar la frecuencia portadora, se digitaliza muestreando periódicamente la señal de voltaje y convirtiendo este voltaje a una forma digital con un convertidor analógico digital. Para poder representar digitalmente con exactitud una onda seno o coseno es necesario, de acuerdo con el *teorema de Nyquist*, muestrear la señal al menos dos veces durante cada ciclo. Si el muestreo se hace con una frecuencia menor de dos veces la frecuencia de la señal, tiene lugar el *plegado o repliegue* de la señal. El efecto de plegado se ilustra en la Figura 19-22a, que muestra cómo una línea de trazos, una señal coseno de 1.600 Hz, se muestrea a una velocidad de 2.000 datos por segundo. Los puntos negros representan los momentos en los que el ordenador muestrea y digitaliza a los datos. Esta velocidad de muestreo es menor que la frecuencia de Nyquist, que es de $2 \times 1.600 = 3.200$ Hz. El efecto de esa inadecuada velocidad de muestreo se indica por la línea continua de la Figura 19-22a, que

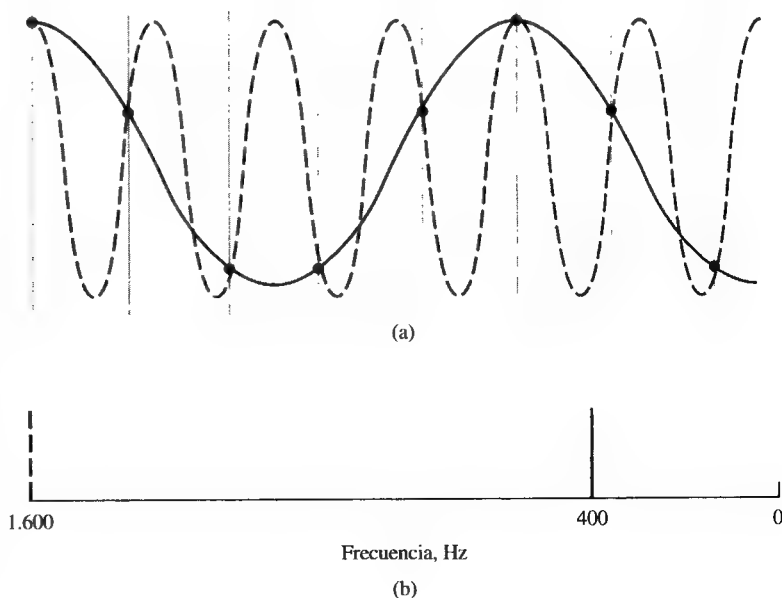


Figura 19-22. Plegado de una línea espectral producido por el muestreo de una señal de 1.600 Hz, que es la curva a trazos (a), a una frecuencia menor que la frecuencia de Nyquist de 3.200 Hz y que es muestreada a una frecuencia de 2.000 datos/segundo, tal como muestran los puntos; la línea continua es la señal que aparece, que es una onda coseno que tiene una frecuencia de 400 Hz. (b) Espectro en el dominio de la frecuencia de la señal de trazos en (a) submuestreada, mostrando la línea de plegado a 400 Hz. (Adaptado de D. Shaw, *Fourier Transform NMR Spectroscopy*, 2.^a ed., pág. 159. New York: Elsevier, 1987. Con autorización de Elsevier Science Publishers.)

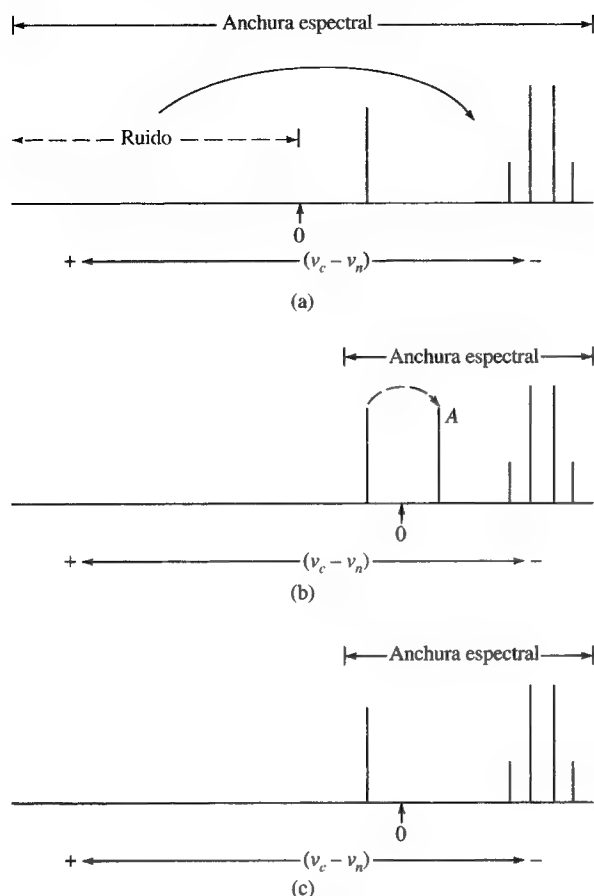


Figura 19-23. (a) Espectro con un solo detector con la frecuencia portadora ν_n ubicada en un extremo del espectro. (b) Espectro con un solo detector con la frecuencia portadora en el centro del espectro; la línea de alta frecuencia se repliega y aparece en las frecuencias bajas. (c) Espectro con un detector en cuadratura con la frecuencia portadora ubicada en el centro del espectro.

es una onda coseno con una frecuencia de 400 Hz. Así, tal como se muestra en la Figura 19-22b, la línea a 1.600 Hz está ausente y la señal evidente es una línea plegada que aparecía 400 Hz en el espectro del dominio de la frecuencia.

Los espectrómetros de RMN modernos utilizan detectores de cuadratura sensibles a la fase que hacen posible la determinación de diferencias positivas y negativas entre la frecuencia portadora y las de la RMN. Así, tal como se muestra en la Figura 19-23c, la señal portadora se ajusta a una frecuencia que se encuentra en la mitad del espectro. De esta forma, se evita el plegado porque los detectores de cuadratura son capaces de reconocer el signo de la diferencia de frecuencias.

Sistemas de detección en cuadratura

Aunque la teoría de la detección en cuadratura está fuera del alcance de este texto, trataremos brevemente las funciones e interacciones de los componentes básicos de un detector en cuadratura sensible a la fase tal como el que se muestra en el diagrama de bloques de la Figura 19-24. En estos sistemas, la señal de RMN que llega se divide y se dirige a dos detectores idénticos. En uno de ellos, la señal se trata de la misma forma que en un detector de un solo canal, restando la señal de RMN de la señal portadora para obtener una señal de audio-frecuencia para digitalizar. En el segundo detector, la fase de la señal portadora se modifica 90 grados antes de la substracción. Como consecuencia, las dos señales de audio son idénticas en todos los aspectos excepto en la fase, de forma que la señal sin cambio de fase es una señal coseno, mientras que la señal de fase cambiada es una onda seno. A continuación estas dos señales se digitalizan, se transforman por separado de la forma usual en señales del dominio de la frecuencia, y se combinan para producir el espectro. En la Figura 19-25 A y B se muestran las señales transformadas de cada canal del detector de la Figura 19-24, cuando la señal de entrada es una línea aislada de RMN. Cada señal de salida está constituida por dos picos debido a que en la señal de entrada del dominio de la frecuencia no distingue entre las diferencias de frecuencia negativas o positivas. Sin embargo, obsérvese que cuando la entrada es una señal coseno, los dos picos tienen el mismo signo, mientras que para una entrada seno, son de signo opuesto. Por consiguiente, cuando se suman las dos señales, desaparece la señal plegada, dejando solamente el pico correcto representado en la Figura 19-25C.

Integradores de la señal

Todos los modernos sistemas registradores de RMN están equipados con integradores electrónicos o digitales que proporcionan las áreas de los picos de absorción. De ordinario, los datos de la integración se presentan como funciones escalonadas superpuestas sobre el espectro de RMN como se ilustra en la Figura 19-26. Por lo general, los datos de las áreas son reproducibles dentro de un error relativo de unas pocas unidades por ciento; pero con una cuidadosa selección de las variables experimentales y de los parámetros de la adquisición de datos, es posible alcanzar una precisión en la integración del 1 al 2 por 100.

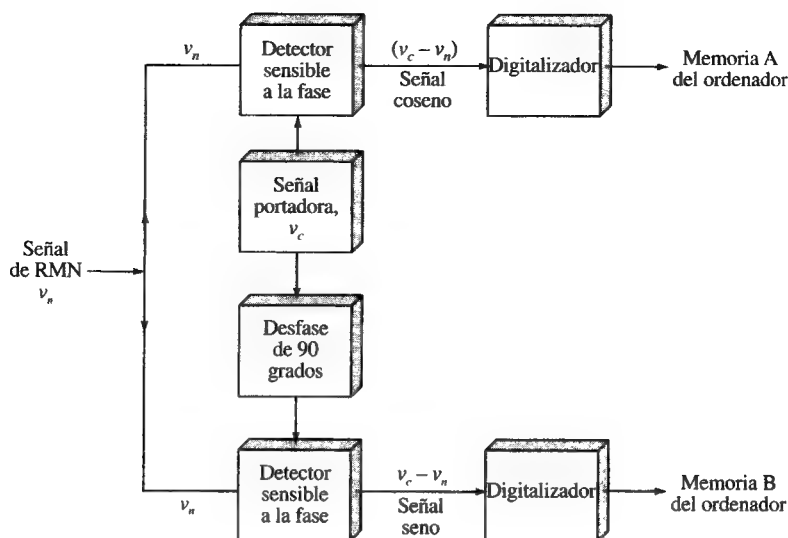


Figura 19-24. Diagrama de bloques de un detector en cuadratura.

19C-5. Manipulación de la muestra

Hasta hace poco, los estudios de RMN de alta resolución se habían restringido a las muestras que se podían obtener en un estado líquido no viscoso. Normalmente se utilizan disoluciones de la muestra del 2 al 15 por 100, aunque las muestras de líquidos puros se pueden también examinar tal cual, si sus viscosidades son suficientemente pequeñas.

Los mejores disolventes para la espectroscopia de RMN de protón no contienen protones; desde este punto de vista, el tetracloruro de carbono es ideal. La baja solubilidad de muchos compuestos en tetracloruro de carbono limita su utilidad general como disolvente para experimentos RMN, sin embargo, en su lugar se utilizan un cierto número de disolventes deuterados. El cloroformo deuterado (CDCl_3) y el benceno deuterado

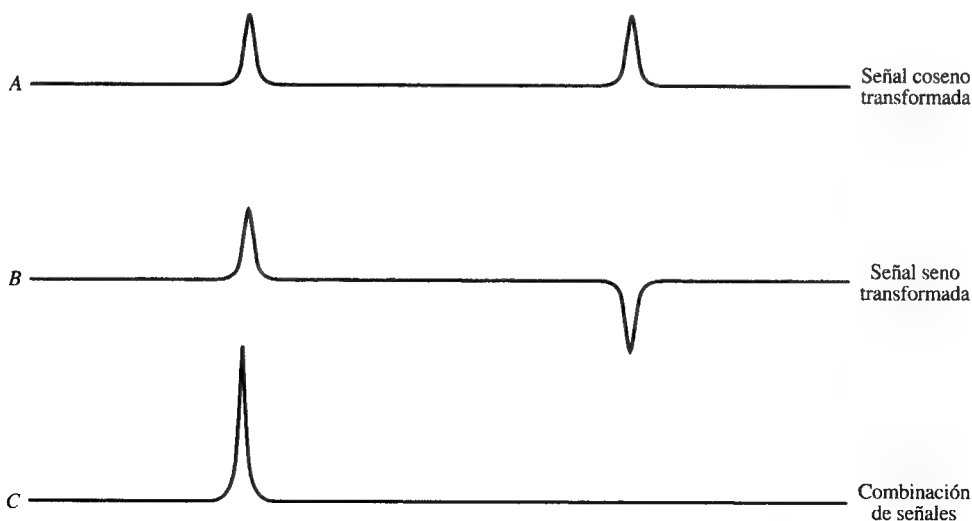


Figura 19-25. Transformación de Fourier de (A) una señal coseno en el dominio del tiempo y (B) de una señal seno en el dominio del tiempo, procedentes de un detector en cuadratura que se muestra en la Figura 19-24. (C) Combinación de A y B para dar un espectro de RMN. (Adaptado con autorización de A. E. Derome, *Modern NMR Techniques for Chemistry Research*, pág. 79. Oxford: Pergamon Press, 1987.)

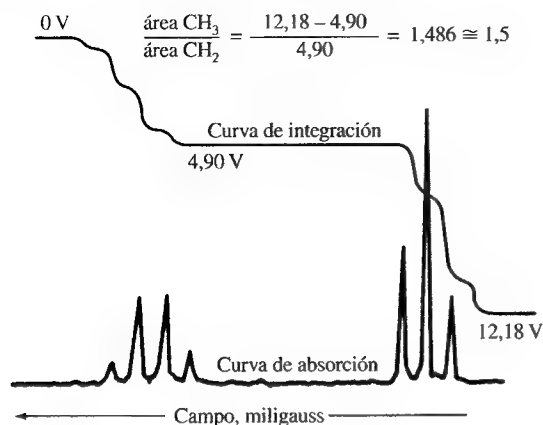


Figura 19-26. Curva de absorción y de integración para una disolución diluida de etilbenceno (región alifática). (Cortesía de Varian Instrument Division, Palo Alto, CA.)

(C₆D₆) son disolventes comúnmente utilizados con este fin.

Hoy en día es posible registrar espectros de elevada resolución de muestras sólidas de manera rutinaria. Se han desarrollado técnicas y se aplican cada vez más para obtener espectros de ¹³C de polímeros, combustibles fósiles y otras sustancias de elevado peso molecular. En el Apartado 19E se puede encontrar una breve discusión de las modificaciones necesarias para producir espectros RMN de sólidos.

19D. APLICACIONES DE LA RMN DE PROTÓN

Indiscutiblemente, la aplicación más importante de la espectroscopia de RMN de protón, es la identificación y la elucidación estructural de moléculas orgánicas, organometálicas y bioquímicas. No obstante, además, este método constituye muchas veces un procedimiento útil para la determinación cuantitativa de las especies que absorben.

19D-1. Identificación de compuestos

Un espectro de RMN, al igual que un espectro de infrarrojo, pocas veces basta por sí mismo para la identificación de un compuesto orgánico. Sin embargo, si se utiliza junto con otras informaciones, tales como los espectros de masas, infrarrojos y ultravioleta, así como el análisis elemental, la RMN es una herramienta poderosa e indispensable para

la caracterización de los compuestos puros. Los ejemplos que seguirán dan una idea de la clase de información que puede obtenerse de los espectros de RMN.

19D-2. Aplicaciones de la RMN al análisis cuantitativo¹⁴

Uno de los aspectos singulares de los espectros de RMN es la proporcionalidad directa entre las áreas de los picos y el número de núcleos responsables de la aparición del pico. Como consecuencia, la determinación cuantitativa de un compuesto específico no requiere muestras puras del compuesto para la calibración. Así, si el pico identificable de uno de los constituyentes de una muestra no se superpone con los picos de los otros componentes, puede emplearse el área de este pico para establecer directamente la concentración de la especie, siempre que se conozca el área de la señal por protón. Este último parámetro puede obtenerse fácilmente a partir de un patrón interno de concentración conocida. Por ejemplo, si el disolvente presente en una cantidad conocida fuera el benceno, el ciclohexano o el agua, las áreas del pico aislado de los protones de estos compuestos podrían usarse para obtener la información deseada. Por supuesto, el pico del estándar interno no debe superponerse con ningún pico de muestra. Los derivados orgánicos silicio resultan especialmente adecuados para fines de calibración, debido a que sus picos de protones se localizan en campos muy altos.

El uso de la espectroscopia de RMN para el análisis cuantitativo no se ha generalizado por el coste de los instrumentos. Además, la probabilidad de que los picos de resonancia se superpongan se hace mayor al aumentar la complejidad de la muestra. En muchas ocasiones, los análisis que son posibles por RMN pueden hacerse igual de cómodamente por otras técnicas.

Análisis de mezclas multicomponentes

Se han desarrollado métodos para el análisis de muchas mezclas multicomponentes. Por ejemplo,

¹⁴ Para un tratamiento reciente de la RMN cuantitativa de protón y de ¹³C, véase *Analytical NMR*, L. D. Fields y S. Sternhell, Eds. New York: Wiley, 1989. Para una descripción de la aplicación de la RMN al análisis de trazas, véase D. L. Rabenstein y T. T. Nakashima, en *Trace Analysis*, G. D. Christian y J. B. Callis, Eds., Capítulo 4. New York: Wiley, 1986.

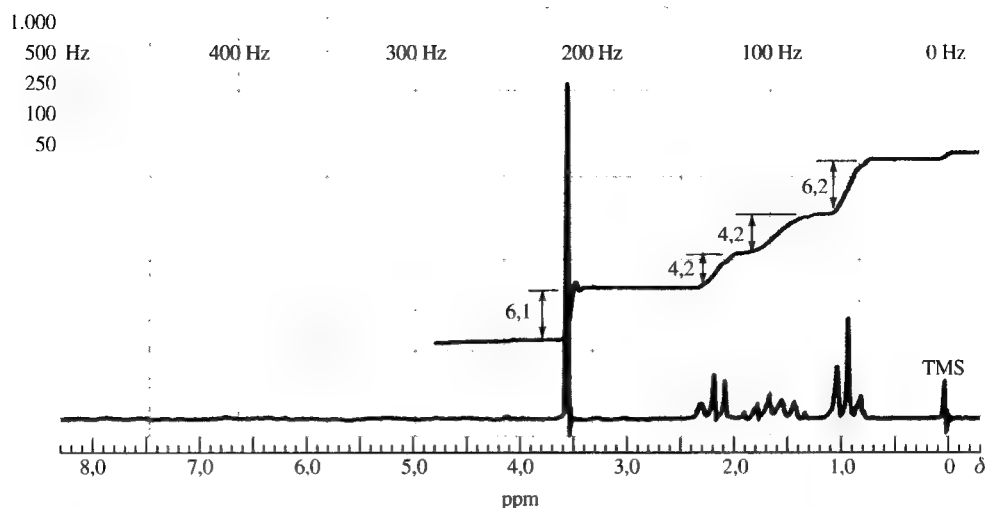


Figura 19-27. Espectro de RMN y curva de integración de los picos para el compuesto orgánico $C_5H_{10}O_2$ en CCl_4 . (Tomado de R. M. Silverstein, G. C. Bassler y T. C. Morrill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 3.^a ed., pág. 296. New York: Wiley, 1974. Reproducido con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

Hollis¹⁵ ha descrito un método para la determinación de aspirina, fenacetina y cafeína en preparaciones analgésicas comerciales. El procedimiento requiere unos 20 minutos, y los errores relativos varían del 1 al 3 por 100. Chamberlain¹⁶ describe un método para el análisis rápido de mezclas de benceno, heptano, etilenglicol y agua. Una amplia gama de mezclas de este tipo se ha analizado con una precisión del 0,5 por 100.

EJEMPLO 19-4

El espectro de RMN mostrado en la Figura 19-27 es de un compuesto orgánico de fórmula empírica $C_5H_{10}O_2$. Identificar dicho compuesto.

El espectro sugiere la presencia de cuatro tipos de protones. De la integración de los picos y de la fórmula empírica se deduce que la distribución de los protones en esos cuatro tipos es de 3, 2, 2 y 3 protones respectivamente. El pico aislado a $\delta = 3,6$ se debe a un grupo metilo aislado. La inspección de la Figura 19-17 y de la Tabla 19-3 sugiere que el pico puede proceder del grupo funcional $CH_3OC(=O)-$. La fórmula empírica y la distribución 2:2:3 de los protones restantes indican

también la presencia del grupo *n*-propilo. La estructura $CH_3OC(=O)CH_2CH_2CH_3$ es consistente con todas estas observaciones. Además, las posiciones y los tipos de desdoblamiento de los tres picos restantes son totalmente compatibles con esta hipótesis. El triplete a $\delta = 0,9$ es típico de un grupo metilo adyacente a un metileno. De acuerdo con la Tabla 19-3, los dos protones del metileno adyacente al pico del carboxilato deben dar el pico triplete que se observa en $\delta = 2,2$. Se esperaría que el otro grupo metileno produjera un desdoblamiento de $3 \times 4 = 12$ picos a alrededor de $\delta = 1,7$. Sólo se observan seis, presumiblemente porque la resolución del instrumento es insuficiente para producir la estructura fina de la banda.

Análisis cuantitativo de grupos funcionales orgánicos

Una de las aplicaciones más útiles de la RMN ha sido la determinación de grupos funcionales, tales como los grupos hidroxilo en alcoholes y fenoles, aldehídos, ácidos carboxílicos, olefinas, hidrógenos acetilénicos, aminas y amidas¹⁷. Los errores relativos encontrados han sido del orden del 1 al 5 por 100.

¹⁵ D. P. Hollis, *Anal. Chem.*, **1963**, 35, 1682.

¹⁶ N. F. Chamberlain, en *Treatise on Analytical Chemistry*, I. M. Kolthoff y P. J. Elving, Eds., Parte I, Vol. 4, pág. 1932. New York: Interscience, 1963.

¹⁷ Véase R. H. Cox y D. E. Leyden, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.^a ed., P. J. Elving, M. M. Bursey e I. M. Kolthoff, Eds., Parte I, Vol. 10, págs. 127-136. New York: Wiley, 1983.

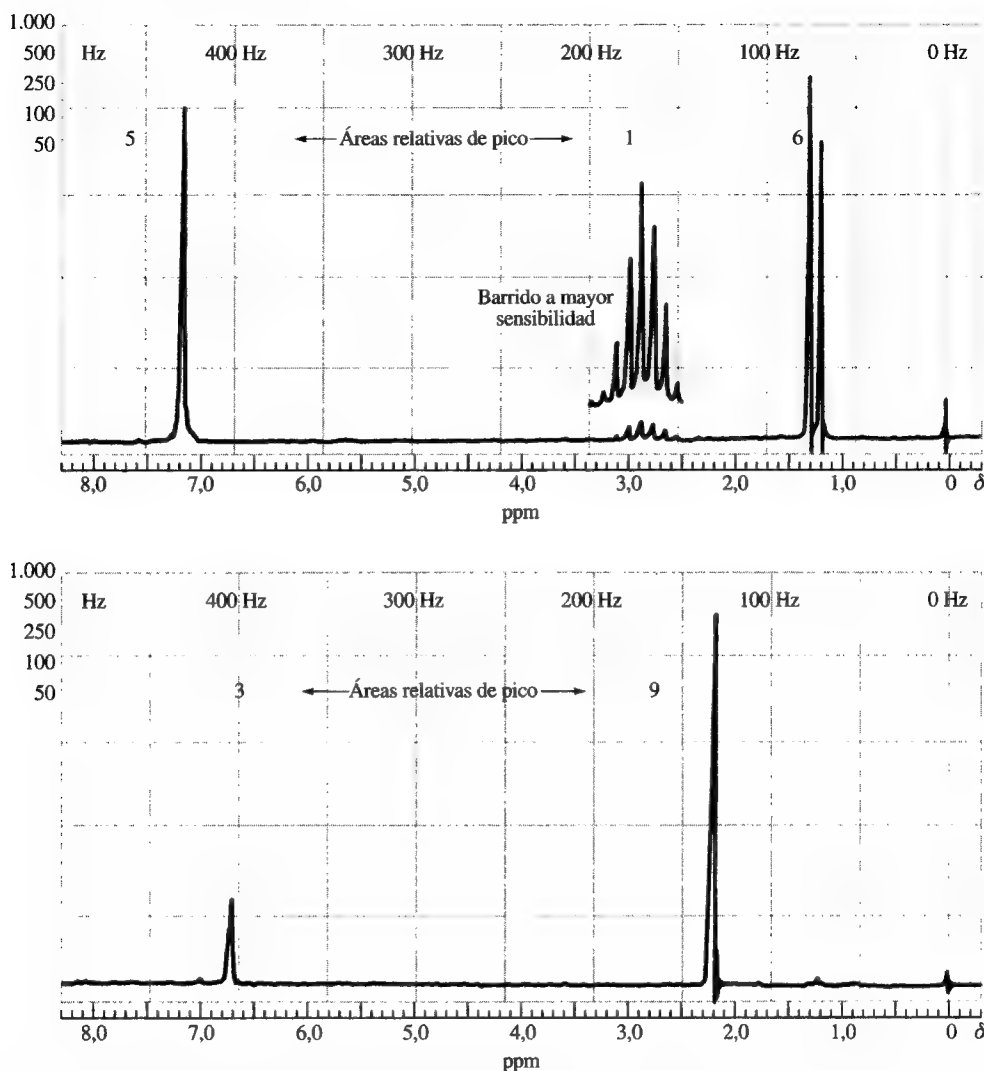


Figura 19-28. Espectros de RMN de dos isómeros orgánicos en CDCl_3 . (Cortés de Varian Instrument Division, Palo Alto, CA.)

Análisis elemental

La espectroscopia de RMN se puede emplear para determinar la concentración total de un núcleo dado, activo en RMN, en una muestra. Por ejemplo, Jungnickel y Forbes¹⁸ han investigado las intensidades de RMN integradas de los picos de protones de numerosos compuestos orgánicos, y han establecido que es posible la determinación cuantitativa precisa del hidrógeno total en mezclas orgánicas.

Paulsen y Cooke¹⁹ han demostrado que la resonancia del flúor ¹⁹ puede utilizarse para el análisis

cuantitativo de dicho elemento en un compuesto orgánico; este análisis es difícil de efectuar por los métodos clásicos. Para análisis cuantitativo se puede emplear un espectrómetro de baja resolución o de línea ancha.

EJEMPLO 19-5

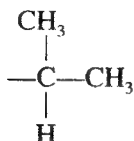
Los espectros mostrados en la Figura 19-28 corresponden a dos compuestos líquidos incoloros isómeros que contienen sólo carbono e hidrógeno. Identificar ambos compuestos.

El pico único a $\delta = 7,2$ en la figura superior sugiere una estructura aromática; el área relativa de

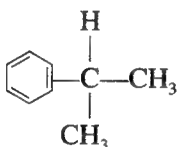
¹⁸ J. L. Jungnickel y J. W. Forbes, *Anal. Chem.*, **1963**, 35, 938.

¹⁹ P. J. Paulsen y W. D. Cooke, *Anal. Chem.*, **1964**, 36, 1721.

este pico corresponde a cinco protones. Esta información sugiere que se puede tener un derivado monosustituido del benceno. Los siete picos del único protón que aparece en $\delta = 2,9$ y el doblete de seis protones a $\delta = 1,2$ sólo pueden explicarse por la estructura



Se deduce así que este compuesto es el cumeno.



El isómero tiene un pico aromático a $\delta = 6,8$; su área relativa sugiere un benceno trisustituido, que sólo puede significar que el compuesto es $\text{C}_6\text{H}_3(\text{CH}_3)_3$. Las áreas relativas de los picos confirman esta conclusión.

EJEMPLO 19-6

El espectro mostrado en la Figura 19-29 es de un compuesto orgánico de masa molecular 72 y que

contiene solamente carbono, hidrógeno y oxígeno. Identificar el compuesto.

El pico triplete a $\delta = 9,8$ parece ser (Fig. 19-17) el de un aldehído alifático, RCHO . Si esta hipótesis es cierta, R tiene una masa molecular de 43, que corresponde a un fragmento de C_3H_7 . El triplete a $\delta = 9,8$ exige que haya un grupo metileno adyacente al carbonilo. De esta forma, el compuesto sería el *n*-butiraldehído, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHO}$.

El pico triplete a $\delta = 0,97$ parece ser el del metilo terminal. Sería de esperar que los protones del metileno adyacente mostraran una multiplicidad complicada de $4 \times 3 = 12$ picos, y la agrupación de picos entorno a $\delta = 1,7$ es compatible con esta predicción.

Por último, el pico de los protones del grupo metileno adyacente al carbonilo debería aparecer como un sextuplete a un campo más bajo que los otros picos de los protones de metileno. El grupo a $\delta = 2,4$ es consistente con esta predicción.

19E. RMN DE CARBONO-13

La resonancia magnética nuclear de carbono-13 se estudió por primera vez en 1957, pero no se utilizó ampliamente hasta principios de los años setenta. La razón de este retraso fue el tiempo que se necesitó para desarrollar instrumentos suficientemente sensibles que permitieran la detección de las débiles señales de RMN del núcleo del ^{13}C . La baja in-

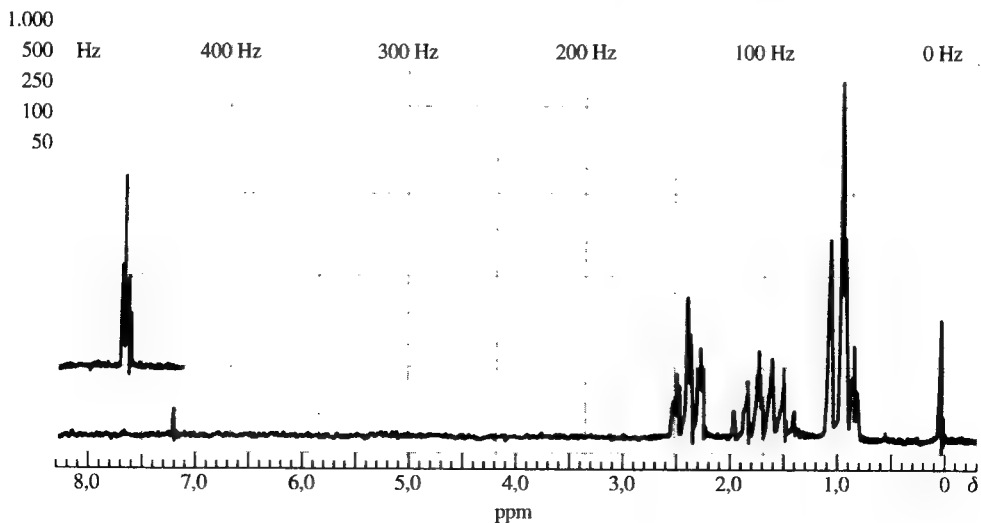


Figura 19-29. Espectro de RMN de un compuesto orgánico puro que contiene solamente C, H y O. (Cortesía de Varian Instrument Division, Palo Alto, CA.)

tensidad de señal se relaciona directamente con la poca abundancia isotópica natural del isótopo (1,1 por 100) y la pequeña relación giromagnética, que es aproximadamente la cuarta parte de la del protón. Estos factores se combinan para hacer la RMN de ^{13}C unas 6.000 veces menos sensible que la RMN de protón.

Los desarrollos más importantes en el aumento de la señal de RMN, que condujeron a un enorme crecimiento de la espectroscopia de resonancia magnética de ^{13}C incluyen: los imanes de alta intensidad de campo y los instrumentos de transformada de Fourier. Sin estos desarrollos la RMN de ^{13}C se restringiría al estudio de sólidos muy solubles de baja masa molecular, líquidos puros y a compuestos enriquecidos isotópicamente²⁰.

En relación con la capacidad para dilucidar estructuras orgánicas y bioquímicas, la RMN de ^{13}C tiene algunas ventajas sobre la RMN de protón. En primer lugar, la RMN de ^{13}C proporciona información acerca del esqueleto de las moléculas más que de su periferia. Además, el intervalo de desplazamiento químico para el ^{13}C para la mayor parte de los compuestos orgánicos es alrededor de 200 ppm, comparado con las 10 a 15 ppm para el protón. Como consecuencia, hay menos solapamiento de picos en los espectros de ^{13}C que en los espectros de protones. Por ejemplo, frecuentemente es posible observar los picos de resonancia individuales de cada átomo de carbono en compuestos cuyos pesos moleculares oscilan entre 200 y 400. Además, no se observa el desacoplamiento homonuclear espín-espín entre átomos de carbono, debido a que en muestras con abundancia isotópica natural la probabilidad de que dos átomos de ^{13}C estén adyacentes es pequeña. Además, no ocurre el acoplamiento de espín heteronuclear entre ^{13}C y ^{12}C , debido a que el número cuántico de espín de este último es cero. Por último, existen excelentes métodos para el acoplamiento de la interacción entre los átomos de ^{13}C y los protones. Con el desacoplamiento, el espectro para un tipo particular de carbono, por lo general, presenta una sola línea.

²⁰ Para una completa discusión de la espectroscopia de RMN de ^{13}C , véase A. Lombardo y G. C. Levy, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.^a ed., P. J. Elving, M. M. Bursey e I. M. Kolthoff, Eds., Parte I, Vol. 10, Capítulo 2. New York: Wiley, 1983; E. Breitmaier y W. Voelter, *Carbon-13 NMR Spectroscopy*, 3.^a ed. New York: VCH Publishers, 1987; R. J. Abraham, J. Fisher, y P. Loftus, *Introduction to NMR Spectroscopy*. New York: Wiley, 1988.

19E-1. Desacoplamiento del protón

Se utilizan tres tipos principales de métodos para el desacoplamiento del protón en RMN de ^{13}C que son el *desacoplamiento de banda ancha*, el *desacoplamiento sin resonancia* y el *desacoplamiento de impulsos* o «gated».

Desacoplamiento de banda ancha

El desacoplamiento de banda ancha es un tipo de desacoplamiento heteronuclear en el que se evita el desdoblamiento espín-espín de las líneas de ^{13}C por los núcleos de ^1H , mediante la irradiación de la muestra con una señal de radiofrecuencia de banda ancha que abarca la región espectral completa del protón, mientras que el espectro de ^{13}C se obtiene de la forma usual. Por lo general, la señal del protón se produce por una segunda bobina localizada en la sonda de la muestra. En la Figura 19-30 se muestra el efecto del desacoplamiento de banda ancha.

Desacoplamiento sin resonancia

Aunque la mayoría de los espectros de ^{13}C se simplifican considerablemente mediante el desacoplamiento de banda ancha, este procedimiento elimina también la información del desdoblamiento espín-espín que puede tener importancia en las asignaciones estructurales. En el pasado, esta limitación se evitaba a veces con el desacoplamiento sin resonancia.

En esta técnica, la frecuencia de desacoplamiento se ajusta a unos 1.000 o 2.000 Hz por encima de la región espectral del protón, lo que origina un espectro parcialmente desacoplado en el que están ausentes todos los desplazamientos espín-espín excepto los más grandes. En estas circunstancias, los núcleos de carbono primario (unidos a tres protones) originan un cuadruplete de picos, los carbonos secundarios dan tres picos, los núcleos de carbono terciarios se presentan como un doblete y los carbonos cuaternarios muestran un solo pico. La Figura 19-31 muestra la utilidad de esta técnica para identificar el origen de los picos en un espectro de ^{13}C .

Desacoplamiento de impulsos

Los espectrómetros modernos de RMN proporcionan información de desacoplamiento mediante la

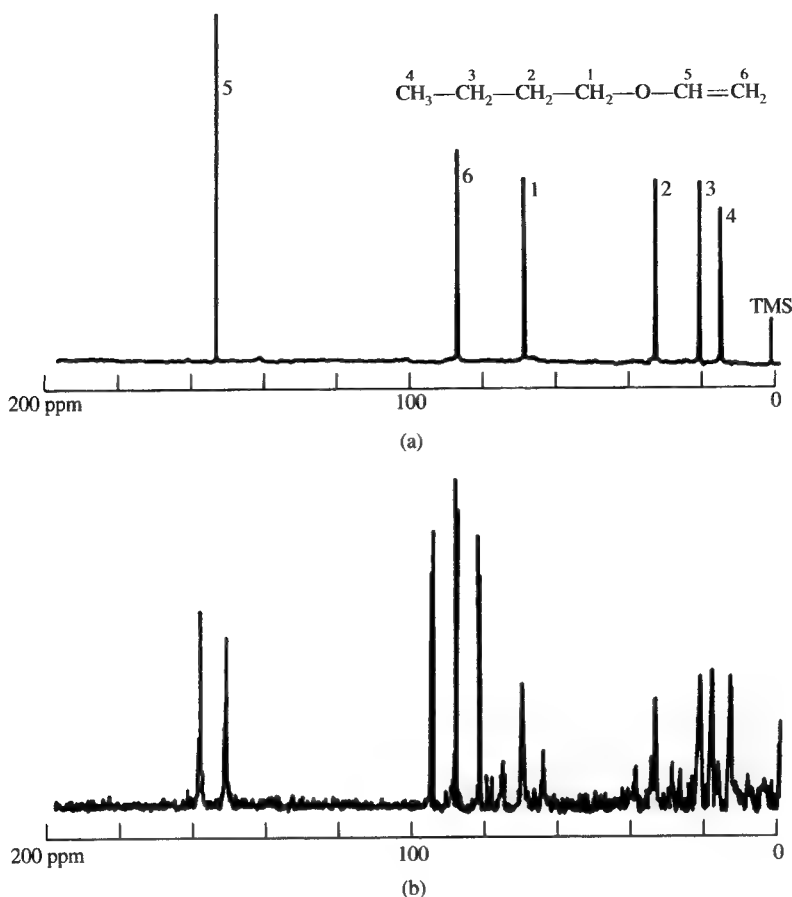


Figura 19-30. Espectros de RMN de ^{13}C para el *n*-butilvinileter obtenidos a 25,2 MHz: (a) espectro desacoplado del protón; (b) espectro mostrando el acoplamiento entre el átomo de ^{13}C y los protones unidos al mismo. (Tomado con autorización de R. J. Abraham, J. Fisher y P. Lofius, *Introduction to NMR Spectroscopy*, pág. 104. New York: Wiley, 1988.)

aplicación de complejos esquemas de impulsos, que mejoran la relación S/R de forma más rápida que el desacoplamiento sin resonancia. Estas técnicas están más allá del alcance de este capítulo²¹.

Aumento nuclear de Overhauser

En las condiciones del desacoplamiento de banda ancha, se encuentra que las áreas de los picos de ^{13}C aumentan en un factor que es bastante mayor que el que cabría esperar debido a la transformación de las estructuras múltiples en líneas simples. Este fenómeno es una manifestación del *aumento nuclear de Overhauser* (NOE), que es un efecto ge-

neral que se da en los procesos de desacoplamiento. Este efecto proviene del acoplamiento magnético directo entre un protón desacoplado y un núcleo de ^{13}C vecino, lo que produce en éste un aumento de la población del estado de menor energía con respecto a la que predice la ecuación de Boltzmann. Como resultado, se produce un aumento de hasta tres veces en la señal del ^{13}C . Aunque el efecto NOE aumenta la sensibilidad de las medidas de ^{13}C , tiene la desventaja de que se puede perder la proporcionalidad entre las áreas de pico y el número de núcleos. La teoría del efecto NOE, que se basa en las interacciones dipolo-dipolo, está fuera del alcance de este texto²².

²¹ Véase J. K. M. Sanders y B. K. Hunter, *Modern NMR Spectroscopy: A Guide for Chemists*. Capítulo 3. New York: Oxford, 1988.

²² Véase D. Shaw, *Fourier Transform Spectroscopy*, 2.^a ed., pág. 233. New York: Elsevier, 1984.

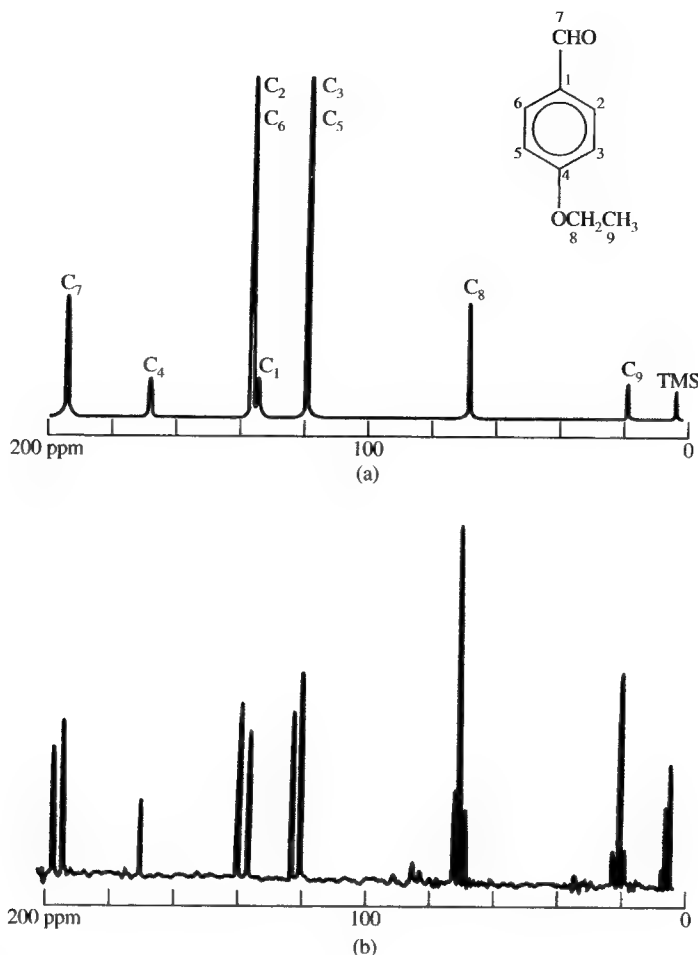


Figura 19-31. Comparación del desacoplamiento de (a) banda ancha y (b) sin resonancia en los espectros de ^{13}C del *p*-etoxibenzaldehído. (Con autorización de R. J. Abraham, J. Fisher y P. Loftus, *Introduction to NMR Spectroscopy*, pág. 106. New York: Wiley, 1988.)

19E-2. Aplicación de la RMN de ^{13}C a la determinación de estructuras

Como en el caso de la RMN de protón, las aplicaciones de la RMN de ^{13}C más importantes y extendidas son la determinación estructural de especies orgánicas y bioquímicas. Estas determinaciones se basan en gran parte en los desplazamientos químicos, y en ellas desempeñan un papel menor los datos de espín-espín a diferencia de la RMN de protón. La Figura 19-32 muestra algunos de los desplazamientos químicos que se observan para el ^{13}C en distintos entornos moleculares. Como en los espectros de protón, estos desplazamientos son re-

lativos al tetrametilsilano, con valores de δ comprendidos entre 0 y 200 ppm. En general, los efectos del entorno son análogos a los que se dan con el protón, los cuales se han descrito en la Sección 19B-2. Sin embargo, en contraste con los espectros del protón, el efecto de los sustituyentes en los desplazamientos de ^{13}C no se limitan a los átomos vecinos. Por ejemplo, sustituyendo un hidrógeno por un cloro en el carbono C_1 , del *n*-pentano se tiene para este carbono un desplazamiento químico de 31 ppm. Cuando la sustitución por cloro es en el carbono C_2 , el desplazamiento para el C_1 es de 10 ppm; de manera análoga sustituciones en los carbonos C_3 , C_4 y C_5 originan desplazamientos de 5,3; 0,5 y 0,1 ppm, respectivamente.

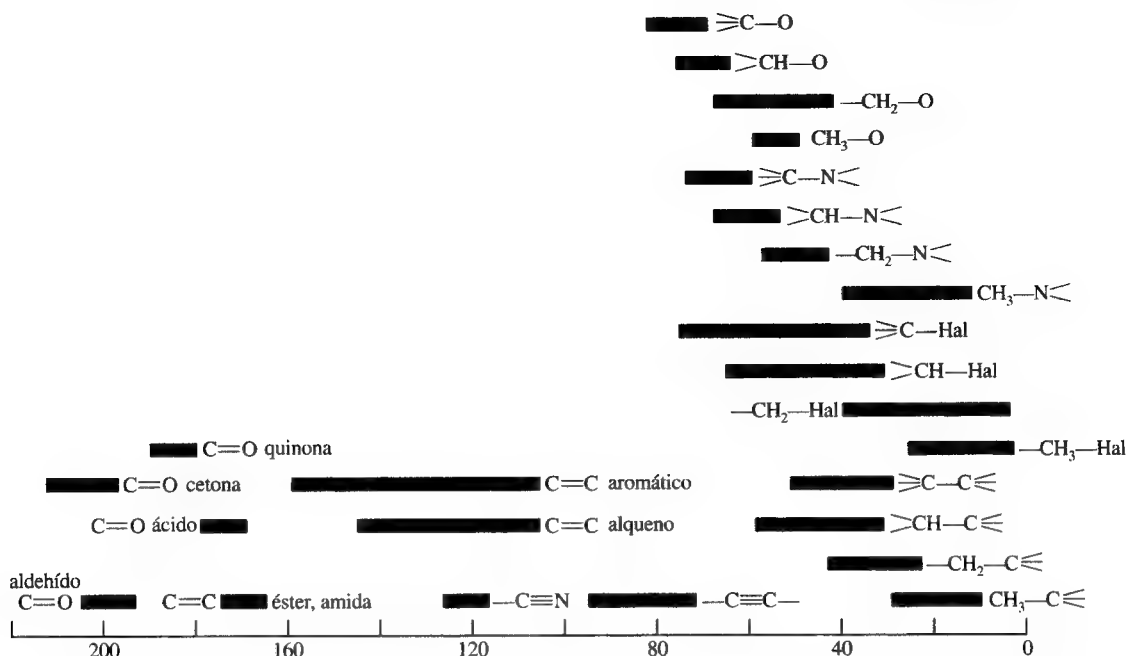


Figura 19-32. Desplazamientos químicos para el ^{13}C . (Tomado de D. E. Leyden y R. H. Cox, *Analytical Applications of NMR*, pág. 196. New York: Wiley, 1977. Reproducido con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

Aplicaciones de la RMN de ^{13}C a muestras sólidas²³

Como se ha subrayado anteriormente, en el pasado los espectros de RMN de sólidos no fueron muy útiles para estudios estructurales debido al ensanchamiento de línea, el cual elimina o enmascara la forma aguda característica de los picos individuales de RMN. En su mayor parte este ensanchamiento es atribuible a dos causas: a las interacciones dipolares estáticas entre ^{13}C y ^1H y a la anisotropía en los tensores de apantallamiento del ^{13}C . En los líquidos isótopos, estos efectos se compensan debido al movimiento rápido y aleatorio de las moléculas. En los sólidos, las interacciones dipolares heteronucleares entre los núcleos magnéticos, tales como el ^{13}C y los protones, originan un desdoblamiento de línea dipolar característico, que depende del ángulo entre los enlaces C-H y el campo externo. En un sólido amorfo, existen un gran número de orientaciones fijas de estos enlaces, y por ello pueden tener lugar un gran

número de desdoblamientos. En este caso, las bandas anchas de absorción están constituidas por numerosas líneas que provienen de estas interacciones dipolares individuales. Es posible eliminar el desdoblamiento dipolar de un espectro de ^{13}C irradiando la muestra con frecuencias del protón mientras se obtiene el espectro. Este procedimiento se denomina *desacoplamiento dipolar*, y es similar al desacoplamiento de espín, que se ha descrito anteriormente para líquidos, excepto en que en este caso se requiere un nivel de potencia mucho mayor.

Un segundo tipo de ensanchamiento de línea en los sólidos se produce por una anisotropía del desplazamiento químico, lo que se ha tratado en el Apartado 19B-2. En este caso, el ensanchamiento resulta de los cambios en el desplazamiento químico con la orientación de la molécula o parte de la molécula con respecto a un campo magnético externo. Teóricamente, se conoce que el desplazamiento químico $\Delta\delta$ producido por la anisotropía magnética viene dado por la ecuación

$$\Delta\delta = \Delta\chi(3 \cos^2 \theta - 1)/R^3 \quad (19-20)$$

donde θ es el ángulo entre el doble enlace y el campo aplicado, $\Delta\chi$ es la diferencia de susceptibilidades magnéticas entre la orientación paralela y la perpen-

²³ Véase B. F. Chmelka y A. Pines, *Science*, **1989**, 246, 71; G. E. Maciel, *Science*, **1984**, 226, 282; B. C. Gerstein, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 781A, 899A; M. Mehring, *High Resolution NMR Spectroscopy in Solids*, 2.^a ed. New York: Springer-Verlag, 1983.

dicular del doble enlace, y R es la distancia entre el grupo funcional anisótropo y el núcleo. Cuando θ es exactamente de 54,7 grados, $\Delta\delta$, tal como establece la Ecuación 19-20, es cero. Experimentalmente, el ensanchamiento de línea debido a la anisotropía del desplazamiento químico se elimina por la *rotación con ángulo mágico* (MAS), que implica la rotación rápida de las muestras sólidas a una frecuencia superior a 2 kHz en un recipiente de muestras especial que se mantiene con un ángulo de 57,4 grados respecto al campo aplicado. En efecto, entonces el sólido se comporta como un líquido que gira en el campo.

Una limitación adicional en la RMN de ^{13}C de sólidos de transformada de Fourier es el gran tiempo de relajación espín-red para los núcleos de ^{13}C excitados. La velocidad a la que se puede mandar impulsos a la muestra depende de la velocidad de relajación. Es decir, tras cada impulso de excitación, debe transcurrir un tiempo suficiente para que los núcleos vuelvan al estado fundamental de equilibrio. Por desgracia, los tiempos de relajación espín-red para los núcleos de ^{13}C en los sólidos son a veces de varios minutos; y por tanto, frecuentemente para obtener un buen espectro el promediado de la señal requeriría algunas horas o incluso días.

El problema originado por los períodos de lenta relajación espín-red se supera mediante la *polarización cruzada*, una técnica de impulsos complicada que hace que las frecuencias de Larmor de los núcleos del protón y de los núcleos del ^{13}C sean idénticas, esto es, $\gamma_{\text{C}}B_{1\text{C}} = \gamma_{\text{H}}B_{1\text{H}}$. En estas condiciones, los campos magnéticos de los núcleos de protón en precesión interactúan con los campos de los núcleos de ^{13}C provocando la relajación de estos últimos.

En la actualidad se dispone de instrumentos comercializados que incorporan el desacoplamiento dipolar, la rotación con ángulo mágico y la polarización cruzada, haciendo de esta forma posible la obtención de espectros de ^{13}C de alta resolución para sólidos. La Figura 19-33, que muestra espectros para el adamantano cristalizado obtenidos en diversas condiciones, ilustra las posibilidades de estos instrumentos.

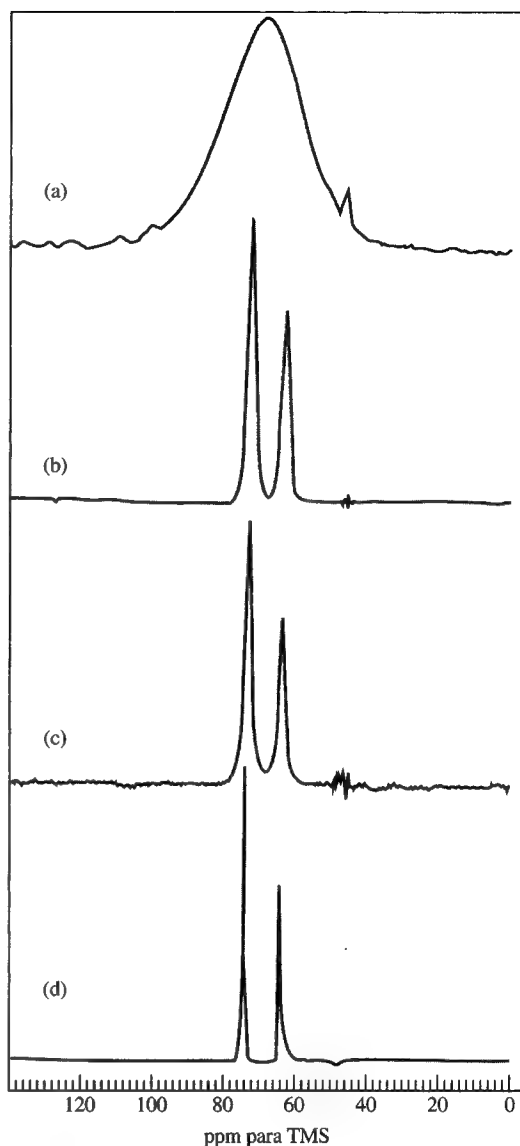
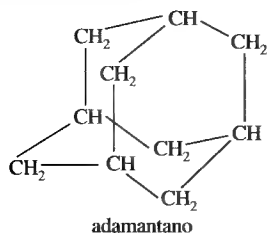


Figura 19-33. Espectros de ^{13}C del adamantano cristalizado: (a) sin rotación ni desacoplamiento del protón; (b) sin rotación pero con desacoplamiento dipolar y polarización cruzada; (c) con rotación con ángulo mágico pero sin desacoplamiento dipolar ni polarización cruzada; (d) rotación con ángulo mágico, desacoplamiento dipolar y polarización cruzada. (Tomado con autorización de F. A. Bovey, *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 2.^a ed., pág. 415. New York: Academic Press, 1988.)

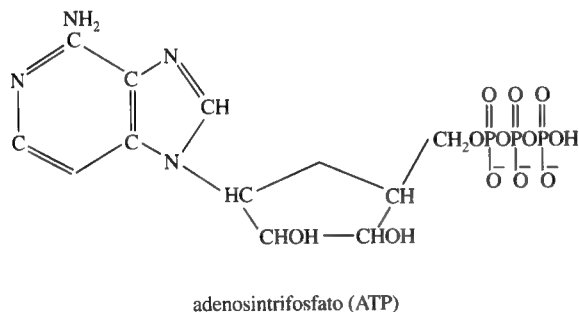
19F. APLICACIÓN DE LA RMN A OTROS NÚCLEOS

Más de 200 isótopos poseen momentos magnéticos y, por tanto, en principio, pueden estudiarse por RMN. Entre los núcleos más frecuentemente estu-

diados se encuentran: ^{31}P , ^{15}N , ^{19}F , ^2D , ^{11}B , ^{23}Na , ^{15}N , ^{29}Si , ^{109}Ag , ^{199}Hg , ^{113}Cd y ^{207}Pb . Los tres primeros son especialmente importantes en los campos de la química orgánica, la bioquímica y la biología.

19F-1. Fósforo-31

El fósforo 31, con número de espín de $1/2$, presenta agudos picos de RMN con desplazamientos químicos que se extienden en un intervalo de 700 ppm. La frecuencia de resonancia del núcleo ^{31}P a 4,7 T es de 81,0 MHz. Numerosas investigaciones, en particular en el campo de la bioquímica, se han basado en la resonancia del P-31. En la Figura 19-34 se muestra un ejemplo. La especie que se estudia es el adenosintrifosfato (ATP), un anión triplemente cargado que tiene un papel vital en el metabolismo de los carbohidratos y en el almacenamiento y liberación de energía en el cuerpo.



El espectro en la parte inferior, que corresponde al ATP en un entorno acuoso, está constituido por tres series de picos que corresponden a los tres átomos de fósforo. El triplete sin duda proviene del átomo de fósforo central, el cual se acopla con los otros dos átomos de fósforo. El doblete alrededor de 14 ppm sugiere, de forma no bien definida el acoplamiento con protones, y así probablemente corresponde al fósforo adyacente al grupo metileno.

Se sabe que los iones magnesio participan en la actividad metabólica del ATP, y los seis espectros restantes de la Figura 19-34 sugieren que tiene lugar la formación de un complejo entre el fósforo aniónico y el catión, lo que provoca que los desplazamientos químicos del fósforo se desplacen a campos más bajos cuanto mayor es la concentración de ion magnesio.

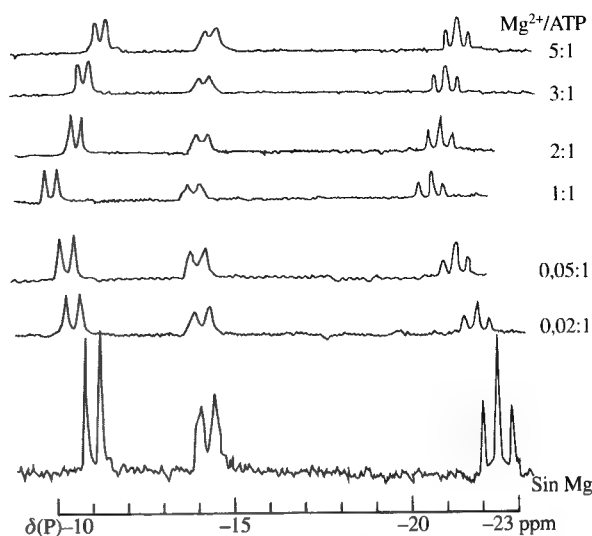


Figura 19-34. Espectros de RMN de fósforo-31 de transformada de Fourier para una disolución de ATP conteniendo iones magnesio. Los cocientes en la parte derecha se refieren a moles de Mg^{2+} /moles de ATP. (Tomado con autorización de J. W. Akitt, *NMR and Chemistry*, 2.ª ed., pág. 245. London: Chapman y Hall, 1983.)

19F-2. Flúor-19

El flúor-19 tiene un número cuántico de espín de $1/2$ y una relación giromagnética cercana a la del ^1H . De este modo, la frecuencia de resonancia del flúor a 188 MHz resulta sólo ligeramente inferior que la del protón a 200 MHz cuando ambos se estudian en un campo de 4,69 T.

La absorción del flúor es también sensible al entorno molecular, y los desplazamientos químicos resultantes se extienden en un intervalo de aproximadamente 300 ppm. Además, el disolvente juega un papel mucho más importante en la determinación de las posiciones de los picos del flúor que con el protón.

Las correlaciones empíricas del desplazamiento del flúor con la estructura son relativamente escasas cuando se comparan con la información referente al comportamiento del protón. Sin embargo, parece probable que en este campo haya progresos en el futuro, en particular en la investigación estructural de los compuestos orgánicos fluorados.

En la Figura 19-35 se, muestran los espectros de protón, de ^{19}F y de ^{31}P que corresponden a la especie inorgánica PHF_2 . En cada espectro, las asignaciones del desdoblamiento espín-espín se

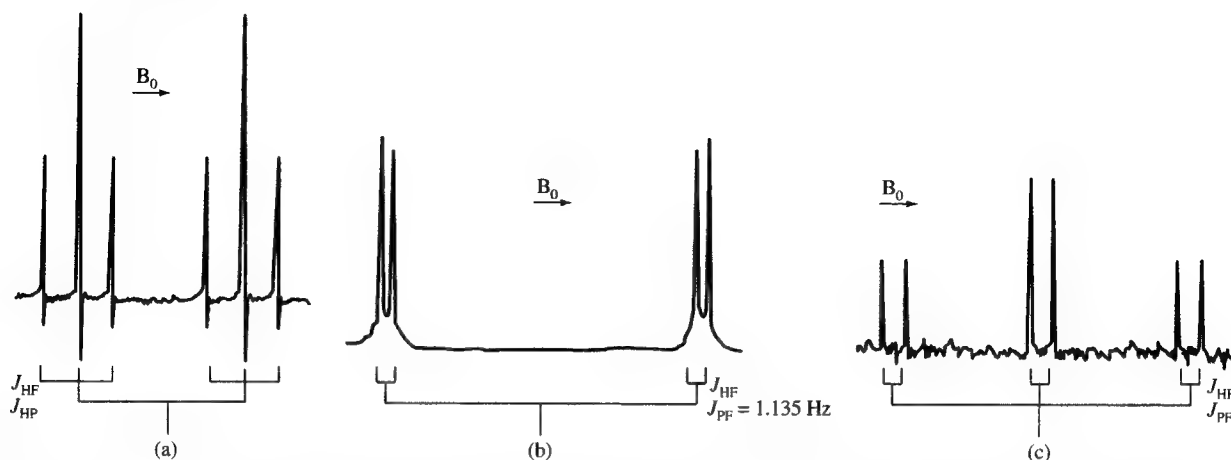


Figura 19-35. Espectro del PHF_2 , líquido a $-20\text{ }^\circ\text{C}$: (a) espectro de ^1H a 60 MHz; (b) espectro de ^{19}F a 94,1 MHz; (c) espectro de ^{31}P a 40,4 MHz. (De R. J. Myers, *Molecular Magnetism and Molecular Resonance Spectroscopy*. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1973. Con autorización.)

pueden hacer con facilidad basándose en lo expuesto en el Apartado 19B-3. Utilizando un moderno instrumento multinuclear, tres de esos espectros se podrían obtener con una sola intensidad de campo magnético.

19G. RMN DE TRANSFORMADA DE FOURIER BIDIMENSIONAL

La RMN bidimensional o 2D RMN, comprende una serie relativamente nueva de técnicas de multiimpulso que hacen posible la interpretación de espectros complejos²⁴. En los métodos bidimensionales, los datos se adquieren, como en la RMN de transformada de Fourier ordinaria, como una función del tiempo t_2 . Sin embargo, antes de obtener la señal de la FID, el sistema es perturbado con un impulso durante un tiempo t_1 . La transformación de Fourier de la FID como una función de t_2 para un t_1 fijado, origina un espectro semejante al que se obtiene en un experimento ordinario de impulsos. Este proceso se repite entonces para varios valores de t_1 , dando así un espectro bidimensional con respecto a dos variables de frecuencia ν_1 y ν_2 , o a ve-

ces a dos parámetros de desplazamiento químico δ_1 y δ_2 . La naturaleza y el tiempo de los impulsos que se han empleado en la 2D RMN varían ampliamente, y en algunos casos se han utilizado más de dos impulsos repetidos. Por este motivo, son muchos los tipos de experimentos bidimensionales que han aparecido en la literatura, tal vez 100 o más. Para ilustrar las posibilidades del método se describe uno de estos experimentos.

La Figura 19-36a es un espectro de 2D RMN de ^{13}C del 1,3-butanodiol. La Figura 19-36b es el espectro ordinario de una dimensión para el compuesto. El espectro bidimensional se obtuvo como sigue: con el desacoplador de banda ancha del protón desconectado, se aplica a la muestra un impulso a 90° . Después de un tiempo t_1 , se conecta el desacoplador y se aplica otro impulso, la correspondiente FID se digitaliza y se transforma. Después de que el equilibrio se ha restablecido, se repite este proceso con otros valores de t_1 , lo que conduce a una serie de espectros que se representan horizontalmente en la figura. Es decir, la proyección a lo largo del eje δ_1 es el espectro que se obtendría sin desacoplamiento. La proyección a lo largo del eje δ_2 coincide con el espectro de ^{13}C totalmente desacoplado. Es evidente que el espectro está constituido por un cuadruplete, dos tripletes y un doblete, cuyo origen resulta obvio si se considera el número de protones unido a cada uno de los cuatro átomos de ^{13}C en la molécula. Esta información no es evidente en el espectro de una dimensión.

²⁴ Para una breve revisión de la 2D RMN, véase K. R. Williams y R. W. King, *Anal. Chem.*, **1990**, 67, A125; A. Bax y L. Lerner, *Science*, **1986**, 232, 960. Para un tratamiento detallado, véase R. R. Ernst, G. Bodenhausen y A. Wokaun, *Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions*. Oxford: Oxford University Press, 1987

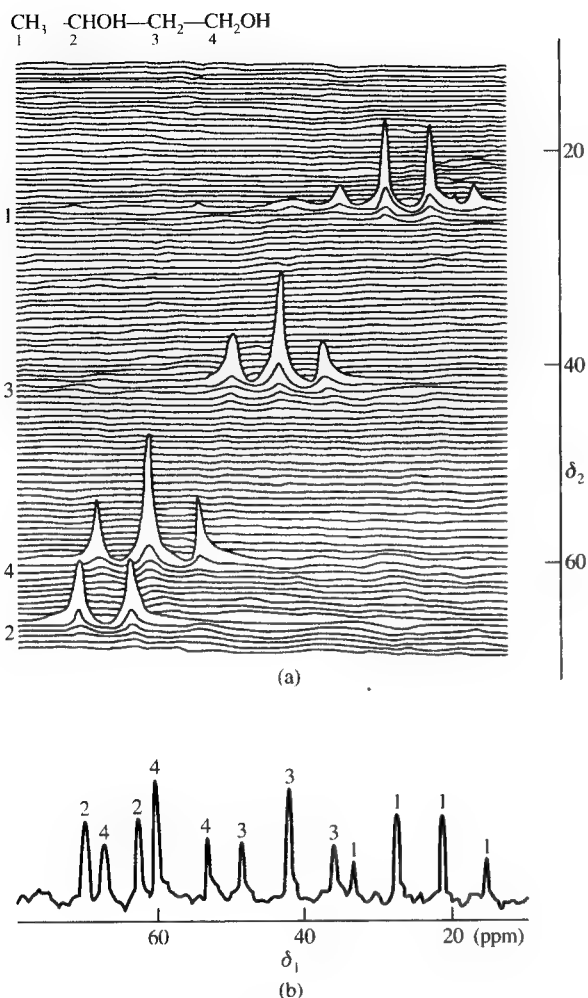


Figura 19-36. Ilustración del uso del espectro de dos dimensiones (a) para identificar los picos de ^{13}C en, (b) un espectro de una dimensión. (Adaptado con autorización de S. Borman, *Anal. Chem.*, **1982**, *54*, 1129A. Copyright 1982 American Chemical Society.)

19H. IMAGEN POR RESONANCIA MAGNÉTICA

Durante las dos últimas décadas, la tecnología de la RMN se ha aplicado de forma creciente a otros campos diferentes de la química, tales como la biología, la ingeniería, el control de calidad industrial y la medicina. Una de las aplicaciones más importantes de la RMN es la obtención de imágenes por resonancia magnética, o RMI. En la RMI, los datos de la excitación con impulsos de RF de objetos sólidos o semisólidos, se someten a una transformación de Fourier y se convierten en imágenes tridi-

mensionales del interior de los objetos. La principal ventaja de la RMI es que las imágenes de los objetos se obtienen de forma no invasiva. Esto significa que existe poco o ningún potencial de lesión por la radiación o cualquier otro daño para los seres humanos o animales, como podría tener lugar con escáneres con rayos X por TAC o con otros métodos similares. En los últimos párrafos de este capítulo, se describirán brevemente los principios de la obtención de imágenes por resonancia magnética y se tratarán algunas de sus aplicaciones. Para una discusión detallada, pero no matemática, de la teoría de la RMI, consultar las fuentes bibliográficas que se dan en la nota a pie de página²⁵.

La idea fundamental de la RMI se representa en la Figura 19-37. En estos experimentos, se varía intencionadamente la intensidad del campo magnético a través del sujeto en estudio para obtener un perfil como el que se muestra en la parte superior de la figura. Esta variación lineal, o gradiente del campo B , se crea por bobinas auxiliares en el hueco del imán que están bajo control del ordenador del instrumento de resonancia magnética. Los protones que tienen diferentes localizaciones en el sujeto, experimentan diferente intensidad del campo magnético, tales como B_1 y B_2 , para dos de las regiones mostradas en la figura. La Ecuación 19-10 o ecuación de Larmor, sugiere que estos núcleos presentan diferentes frecuencias de resonancia, ν_1 y ν_2 en este caso. Así, por ejemplo, si se aplica un gradiente de 1×10^{-5} teslas/cm a lo largo del hueco, o eje z , de un imán para RMI, se produce un intervalo de frecuencias de resonancia de $(2,68 \times 10^8 \text{ radianes s}^{-1} \text{ T}^{-1})(1 \times 10^{-5} \text{ T/cm})/(2\pi \text{ radianes}) = 425 \text{ Hz}$. En otras palabras, los protones separados 1 cm en el sujeto a lo largo del gradiente del campo, tendrán frecuencias de resonancia que diferirán en 425 Hz. Por tanto, cambiando la frecuencia central de la sonda de impulsos de RMN en incrementos de 425 Hz, es posible explorar posiciones separadas 1 cm en la dirección del gradiente del campo magnético. Cada impulso consecutivo de RF produce una señal de FID que codifica la concentración de protones en posiciones situadas a intervalos de 1 cm en la dirección del gradiente del campo. Cuando las FID se someten a una transformación de Fourier, se obtiene la información de la concentración como se indica por las alturas de los picos

²⁵ S. L. Smith, *Anal. Chem.*, **1985**, *57*, 595A; H. J. Smith y F. N. Ranallo, *A Non-Mathematical Approach to Basic MRI*. Madison, WI: Medical Physics Publishing, 1989.

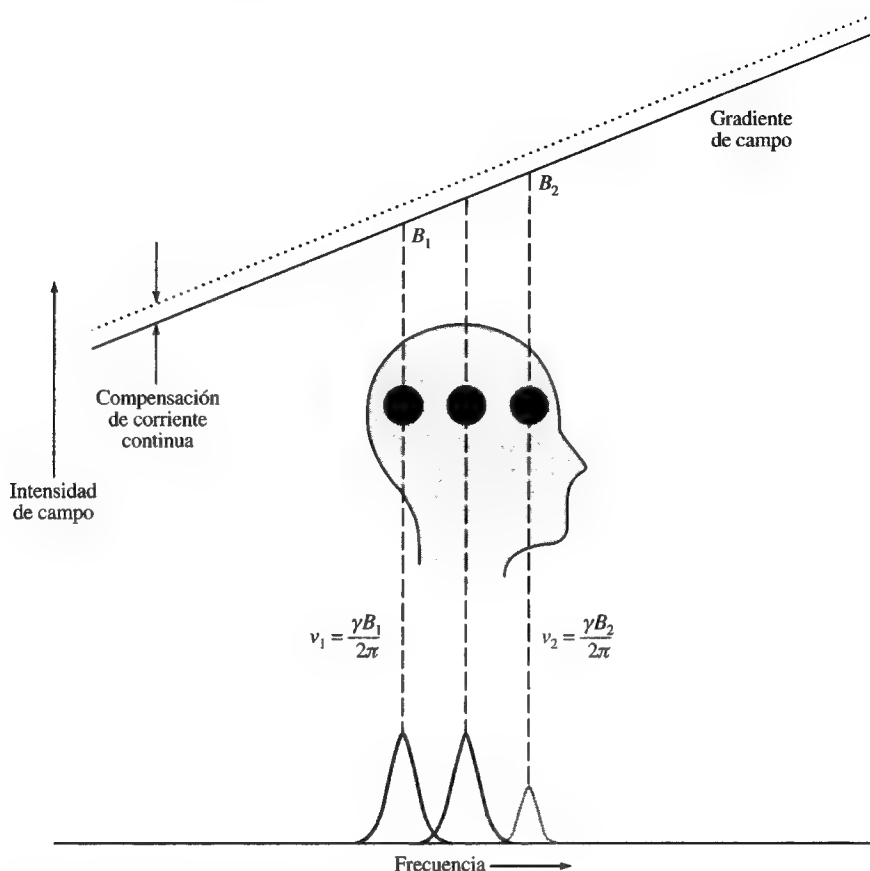


Figura 19-37. Concepto fundamental de la RMI.

situados en la parte inferior de la Figura 19-37. En la práctica, la posición del corte explorado a lo largo del eje z se puede cambiar añadiendo una compensación de corriente continua a las bobinas auxiliares, como se muestra mediante el gradiente de campo representado a trazos en la Figura 19-37. Cada corte se explora cambiando la anchura del impulso de RF para sintonizar su frecuencia a la frecuencia de precesión de los protones del corte explorado. El pico del medio en la Figura 19-37, corresponde al círculo central y representa la señal de los protones del centro de la cabeza del sujeto. Si se aumenta el gradiente del campo aplicado, disminuye el espesor del corte examinado.

El proceso de selección de la posición, descrito en el párrafo anterior, proporciona información espacial en una dimensión a lo largo del eje z invirtiendo los espines de los protones *dentro* del corte elegido. La información, dentro de cada corte a lo largo del eje z , se adquiere de una forma ligeramente diferente tal como se muestra esquemática-

mente en la Figura 19-38. El corte elegido se representa en la figura como una cuadrícula bidimensional que corresponde a un corte en el plano x - y , y que consta de las filas 1, 2 y 3, y de las columnas a, b y c. Por sencillez, la cuadrícula se presenta como una matriz de 3×3 elementos, pero en la práctica el corte podría tener 128×128 , 256×256 , o 512×512 elementos, y cada elemento o *pixel* representa un área de $1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm}$ en la muestra. En tales experimentos de imagen en tres dimensiones, el gradiente de campo en el eje z se selecciona para dar un corte de 1 mm de espesor y a continuación se desconecta. En este momento de la secuencia del proceso de medida, todos los protones del corte tienen sus espines invertidos. Se aplica entonces un segundo gradiente al sujeto a lo largo de una dirección perpendicular al eje z , utilizando un segundo conjunto de bobinas en el eje y , orientadas en ángulo recto respecto al eje del hueco del imán. Los núcleos en diferentes posiciones en el eje y precesarán a diferentes frecuencias dependiendo de su

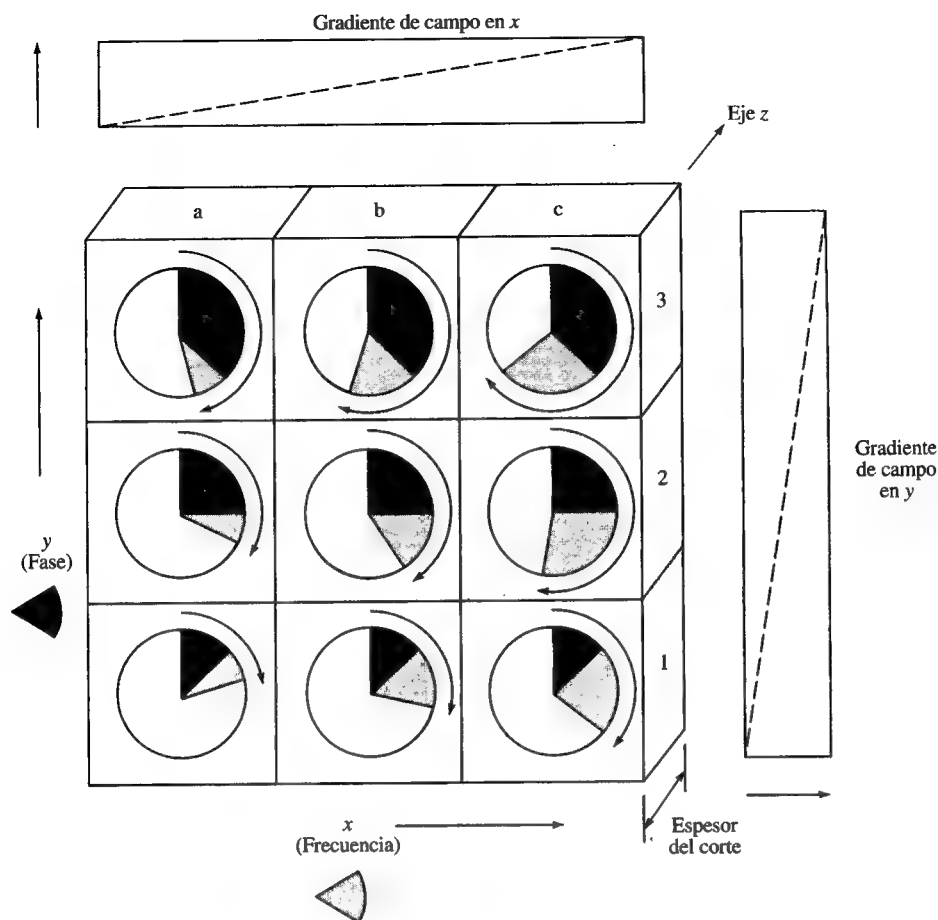


Figura 19-38. Adquisición de información dentro de los cortes a lo largo del eje z.

posición en el gradiente del campo. Cuando este segundo gradiente a lo largo del eje y se desconecta, todos los núcleos situados a la distancia correspondiente a la fila 1 del eje y de la Figura 19-38 han precesado a través de un ángulo de fase fijo, cuyo valor es proporcional al tamaño del sector de color gris oscuro en forma de tarta de los círculos de la fila 1. Así, la distancia a lo largo del eje y es codificada en el ángulo de fase de los protones que precesan, y es representada por los sectores circulares grises oscuros.

Tan pronto como se finaliza el gradiente sobre el eje y, se activa un tercer conjunto de bobinas magnéticas que es perpendicular tanto al eje z como al eje y. Esto produce un gradiente de campo en una tercera coordenada a lo largo del eje x. Puesto que los núcleos de la columna (b) han experimentado un campo magnético más intenso que los de la columna (a), precesarán a mayor frecuen-

cia, cuyo valor viene representado por los sectores circulares de color gris claro. Análogamente, los núcleos de la columna (c) tienen la máxima frecuencia en la matriz de 3 x 3 pixels de la Figura 19-38. El resultado es que las posiciones de los núcleos en la coordenada x son codificadas por sus frecuencias de precesión. El ángulo de precesión total, que se indica por medio de las flechas circulares de la figura, es único para cada elemento de la matriz, y por tanto la posición de cada uno de ellos está codificada por su ángulo total. Las bobinas receptoras están conectadas durante la aplicación de esta última frecuencia codificadora de la fase, y se registra la FID. El ciclo completo de (1) selección del corte, (2) codificación de la fase en la coordenada y, (3) codificación de la frecuencia en la coordenada x, y (4) registro de la FID, requiere sólo unos cientos de milisegundos como máximo. El siguiente paso en la recogida de datos es conectar las

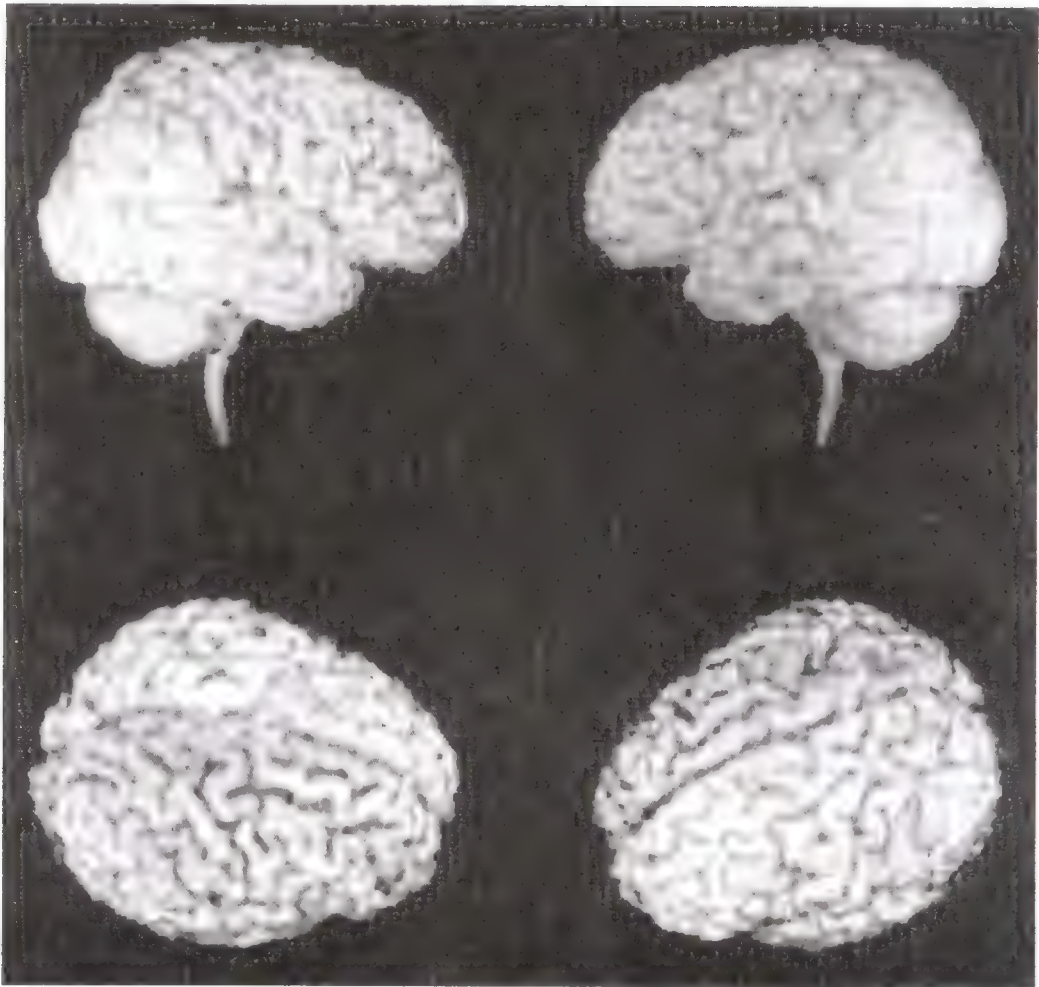


Figura 19-39. Las estructuras internas de los pacientes se pueden reconstruir a partir de las matrices de datos tridimensionales de la RMN. (Fotografía por cortesía de C. D. Smith, Memory Disorders Clinic, Sanders-Brown Research Center on Aging, University of Kentucky Medical Center. Con autorización.)

bobinas del eje z para invertir de nuevo los espines de los núcleos del corte, y repetir la secuencia con un gradiente algo mayor en el eje y para codificar la fase de la fila 2. Este paso es seguido por la aplicación del gradiente en el eje x para codificar la frecuencia de las columnas (a), (b) y (c), y la adquisición de la FID de la fila 2. Finalmente, se repite la secuencia completa de medida para la fila 3, y se adquiere la FID correspondiente. El resultado del proceso para el corte completo 3×3 es un conjunto de 3 FID que representan la señal de resonancia en el dominio del tiempo S , cada una de las cuales es una función de los gradientes del campo G_x y G_y en los ejes x y y respectivamente. La señal en el dominio del tiempo $S(G_x, G_y)$, que contiene información relacionada con el ángulo de precesión total, es so-

metida a una transformación de Fourier en dos dimensiones. El resultado es una señal en el dominio de frecuencias $S(\omega_x, \omega_y)$ cuyas frecuencias en los ejes x y y son directamente proporcionales a las distancias d_x y d_y . Esto es,

$$S(G_x, G_y) \rightarrow S(\omega_x, \omega_y) \rightarrow S(d_x, d_y)$$

Finalmente la información de la distancia en dos dimensiones $S(d_x, d_y)$ se combina para todos los cortes en la coordenada z , para proporcionar una matriz tridimensional de datos. Cada elemento de la matriz tiene una intensidad que es proporcional a la concentración de protones en un elemento de volumen, o *voxel*, correspondiente a cada conjunto de coordenadas x , y y z . Obsérvese que con la excep-

ción del imán, que debe tener un hueco bastante grande y ofrecer un campo estático intenso de 0,5 a 4,7 T, el funcionamiento de los instrumentos para la RMI y los de la RMN de alta resolución es idéntico. Precisamente, en ambos tipos de instrumentos se utilizan las mismas técnicas de secuenciación de impulsos y los mismos procedimientos de aumento de la señal. Aunque la discusión precedente se ha simplificado considerablemente, la secuencia básica y los esquemas de codificación son realistas. La aplicación inteligente y oportuna de varias secuencias de impulsos de RF y de diversos gradientes de campo, de apropiadas transformaciones de Fourier y análisis de datos y rutinas de software para reconstrucción, produce imágenes tridimensionales. Se pueden reconstruir estructuras internas de los sujetos a partir de las matrices de datos tridimensionales, como se muestra en el grupo de cuatro imágenes tipo RMI de la Figura 19-39. Las imágenes son cuatro verdaderas reconstrucciones tridimensionales del cerebro de una paciente joven aquejada de encefalitis de Rasmussen, y han sido realizadas utilizando un solo conjunto de datos de RMI. Estas imágenes muestran una reducción drás-

tica de la porción frontal derecha del cerebro que es característica de esta rara enfermedad. La capacidad de generar imágenes de gran resolución (milímetro) a partir de datos verdaderamente tridimensionales es una potencialidad única de la técnica de la RMI²⁶.

Una segunda imagen por RM, que se expone en la Figura 19-40, muestra las imágenes de funcionamiento por resonancia magnética (fMRI), que cartografían en el hemisferio izquierdo del cerebro el resultado de la tarea de tener que nombrar objetos. La porción clara del mapa muestra diferencias estadísticamente significativas en la intensidad de la señal, debidas a cambios en la oxigenación sanguínea cerebral como consecuencia de la activación de las regiones del cerebro que están implicadas en la tarea de nombrar objetos, en comparación con una tarea de referencia. En este caso, la tarea acometida por el sujeto fue nombrar dibujos a líneas estandarizados, de una serie de siete temas. El mapa muestra la acti-

²⁶ C. D. Smith, Memory Disorders Clinic, Sanders-Brown Research Center on Aging, University of Kentucky Medical Center, unpublished results.

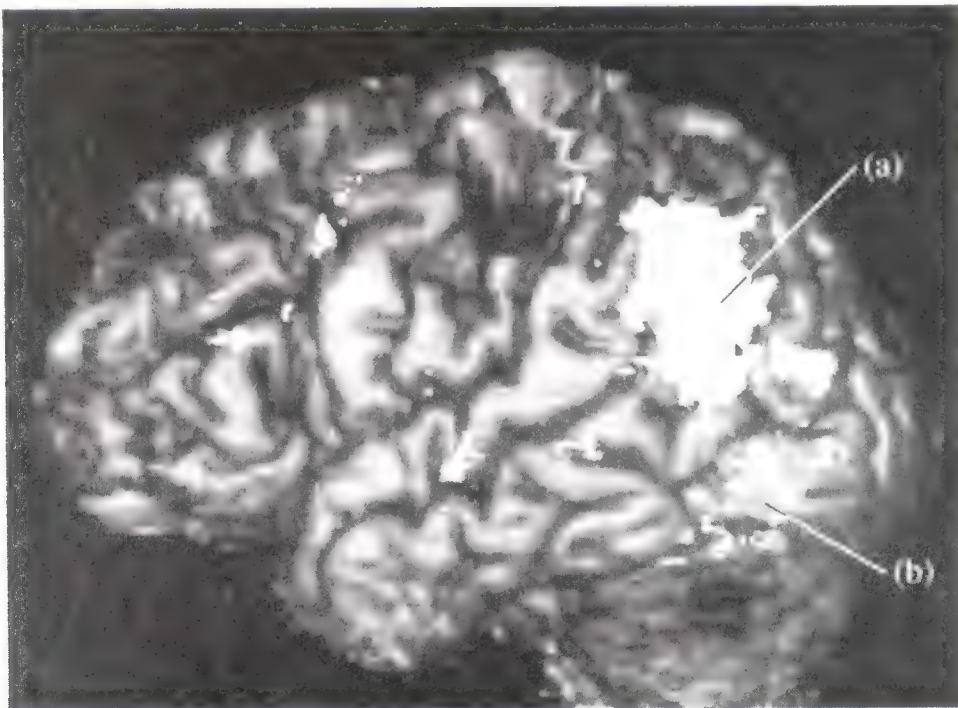


Figura 19-40. Imagen de fMRI que muestra la actividad cerebral del hemisferio izquierdo como resultado de la tarea de nombrar objetos. (Con autorización de C. D. Smith, A. H. Andersen, Q. Chen, L. X. Blonder, J. E. Kirsch, M. J. Avison, *Neuro Report*, 1996, 7, 2.)

vación del *giro angular*, que es la mancha grande iluminada de la parte superior derecha del cerebro en esta imagen, y de la denominada *área 37*, que es la región más pequeña de color gris claro en la región inferior derecha de la imagen. Se sabe que ambas regiones del cerebro están implicadas en el procesamiento del lenguaje. El cartografiado de las regiones del cerebro implicadas en tipos específicos de procesado y ejecución, es actualmente un área de intensa investigación. Las ventajas de la fMRI en comparación con otras técnicas son la naturaleza no invasiva de la misma, su reproducibilidad, su velocidad de adquisición de datos y su elevada resolución espacial intrínseca²⁷.

La RMI se ha convertido en un pilar del arsenal de herramientas diagnósticas médicas, pero su aplicación a otras áreas ha sido lenta en llegar. Este hecho tiene probablemente su origen en el coste muy elevado de las instalaciones de la RMI, que puede ser de hasta un millón de dólares para un instrumento para investigación y de hasta tres millones de dólares para una unidad de diagnóstico médico. La mayor parte del coste de estas unidades corresponde a la adecuación del lugar de emplazamiento, al blindaje magnético y a la indispensable elevada estabilidad que ha de tener el imán con gran hueco. Como un ejemplo de los efectos del elevado coste de la instrumentación, téngase en

cuenta que una sola sesión médica de RMI cuesta al paciente o a la compañía de seguros alrededor de mil dólares. Las inherentes ventajas de la RMI han comenzado a eclipsar, en los últimos años, el factor coste, y estas imágenes han empezado a utilizarse en otras áreas de la ciencia y el comercio, principalmente en la industria alimentaria, para el examen no invasivo de una variedad de artículos alimenticios. La RMI se ha utilizado para tareas tan diversas como la exploración de la distribución de grasa y músculo en las carnes; la determinación de los parámetros de relajación en RMN de la carne curada de cerdo; la determinación del contenido en agua y lípidos del aceite de girasol y en las emulsiones agua/carne; el estudio de la transmisión de calor, de la composición y de la estructura en alimentos cocinados durante su procesado; la medida de los fenómenos de transporte en el procesado de alimentos; la investigación de la cristalización de las grasas; la visualización de la hidratación de los alimentos; el examen de la estructura interna y química de los polímeros; y el análisis de filtración de partículas en los núcleos de las arenas. A medida que vayan desarrollándose la sofisticación y la facilidad de aplicación de procedimientos de mejora de datos, la elaboración de las secuencias de impulsos y los protocolos de adquisición de datos, especialmente para la determinación de núcleos diferentes del hidrógeno, la RMI sin ninguna duda se convertirá en una herramienta indispensable en la investigación no invasiva de materiales.

²⁷ C. D. Smith, A. H. Andersen, Q. Chen, L. X. Blonder, J. E. Kirsch, M. J. Avison, *Neuro Report*, 1996, 7, 2.

19I. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 19-1. Explicar la diferencia en la forma en que se realiza un experimento de RMN de transformada de Fourier y uno de onda continua.
- 19-2. ¿Cuáles son las ventajas de las medidas de RMN de transformada de Fourier sobre las medidas de onda continua? ¿Cuáles son las desventajas?
- 19-3. En la espectroscopia de RMN, ¿cuáles son las ventajas de utilizar un imán con una intensidad de campo tan grande como sea posible?
- 19-4. ¿Cómo se pueden diferenciar las líneas de desdoblamiento espín-espín de las líneas de desplazamiento químico?
- 19-5. Definir
 - (a) Anisotropía magnética.
 - (b) La constante de apantallamiento.

- (c) El parámetro del desplazamiento químico.
 (d) Medidas de RMN de onda continua.
 (e) Frecuencia de Larmor.
 (f) Constantes de acoplamiento.
 (g) Espectros de RMN de primer orden.
- 19-6.** Un núcleo tiene un número cuántico de espín de $5/2$. ¿Cuántos estados magnéticos de energía tiene este núcleo? ¿Cuál es el número cuántico magnético de cada uno?
- 19-7.** ¿Cuál es la frecuencia de absorción en un campo magnético de 2,4 T de: (a) ^1H , (b) ^{13}C , (c) ^{19}F , (d) ^{31}P ?
- 19-8.** ¿Por qué el desdoblamiento espín-espín $^{13}\text{C}/^{13}\text{C}$ no se observa en los compuestos orgánicos ordinarios?
- 19-9.** Calcular el número relativo de núcleos de ^{13}C en los estados magnéticos más alto y más bajo a 25°C y en un campo magnético de 2,4 T.
- 19-10.** ¿Cuál es la diferencia entre relajación longitudinal y transversal?
- 19-11.** Explicar el origen de una señal de FID en la FT/RMN.
- 19-12.** ¿Qué es un modelo de referencia rotatorio?
- 19-13.** Comparar el ΔE para un núcleo aislado de ^{13}C con el de un núcleo de ^1H .
- 19-14.** Calcular la frecuencia de resonancia de cada uno de los siguientes núcleos en un campo magnético de 5,0 T: (a) ^{19}F y (b) ^{31}P .
- 19-15.** ¿Cuál es la relación entre el número de núcleos de ^{13}C en el estado de mayor energía y el número de éstos en el estado de menor energía en un instrumento de 220 MHz si la temperatura es 300 K?
- 19-16.** Comparar brevemente los espectros de RMN de ^1H y de ^{31}P del ácido metilfosforoso $\text{P}(\text{OCH}_3)_3$ a 1,4 T. Resulta que hay un débil acoplamiento espín-espín entre los núcleos de fósforo y los de hidrógeno en el compuesto.
- 19-17.** A temperatura ambiente, el espectro de ^1H del metanol, no presenta acoplamiento espín-espín, pero cuando la muestra de metanol se enfría a -40°C , la velocidad de intercambio de los protones del hidroxilo es suficientemente lenta como para observar el desdoblamiento. Dibujar aproximadamente los espectros del metanol a las dos temperaturas.
- 19-18.** Con los datos de las constantes de acoplamiento siguientes, predecir los espectros de ^1H y de ^{19}F para los siguientes compuestos:

Especie	$J(\text{Hz})$
(a) $\text{F}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$	21
(b) CF_3-CH_3	12,8
(c) $(\text{CH}_3)_3-\text{CF}$	20,4

- 19-19. Predecir el aspecto del espectro de ^{13}C de alta resolución (desacoplado del protón) de
 (a) Formiato de metilo.
 (b) Acetaldehído.
 (c) Acetona.
- 19-20. Repetir la Cuestión 19-19 cuando los protones no están desacoplados.
- 19-21. Predecir el aspecto del espectro de RMN de alta resolución de protón para el ácido propiónico.
- 19-22. Predecir el aspecto del espectro de RMN de alta resolución de protón de
 (a) Acetaldehído
 (b) Ácido acético.
 (c) Nitrito de etilo.
- 19-23. Predecir el aspecto del espectro de RMN de alta resolución de protón de
 (a) Acetona.
 (b) Metiletilcetona.
 (c) Metilisopropilcetona.
- 19-24. Predecir el aspecto del espectro de RMN de alta resolución de protón de
 (a) Ciclohexano.
 (b) 1,2-dimetoxietano, $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$.
 (c) Dietileter.
- 19-25. Predecir el aspecto del espectro de RMN de alta resolución de protón de
 (a) Tolueno.
 (b) Etilbenceno.
 (c) *i*-butano.
- 19-26. El espectro de protón en la Figura 19-41 corresponde a un compuesto orgánico que contiene un solo átomo de bromo. Identificar el compuesto.

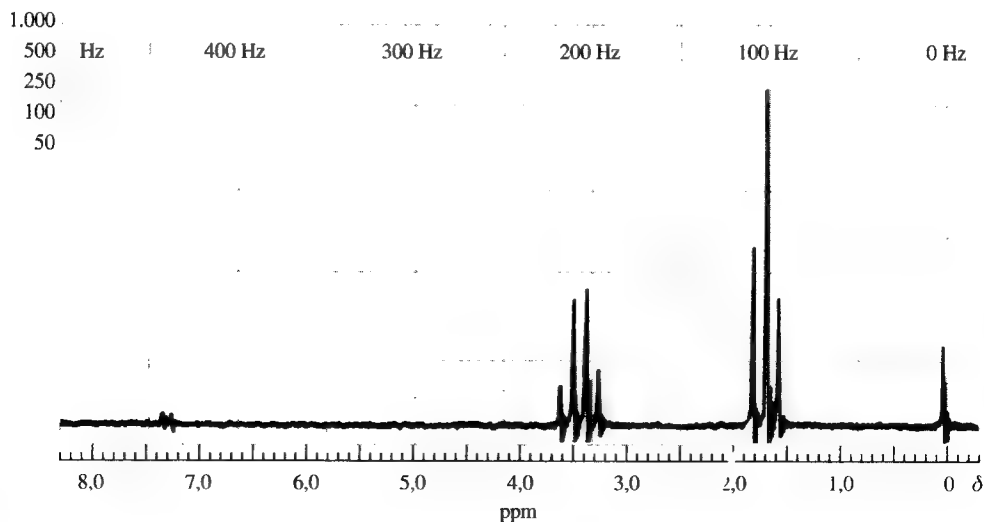


Figura 19-41. (Cortesía de Varian Instrument Division, Palo Alto, CA.)

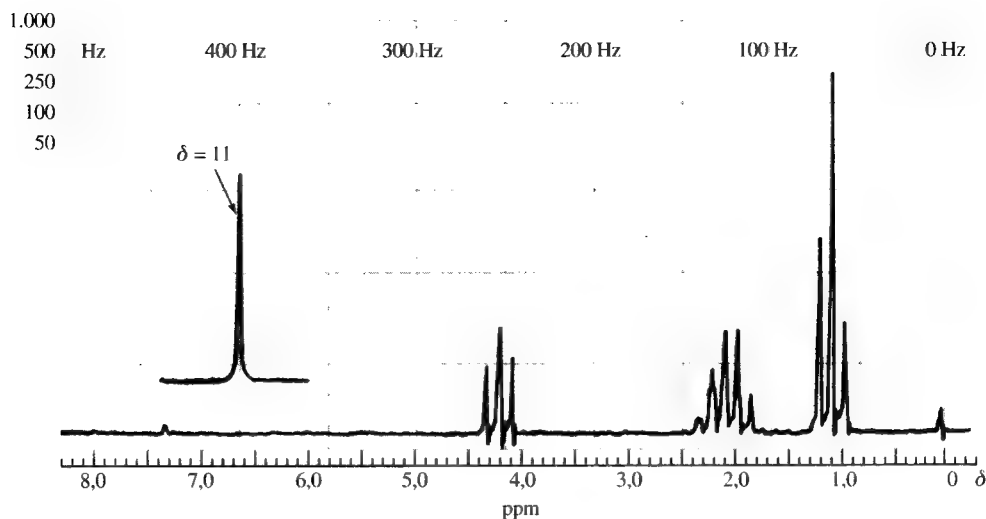


Figura 19-42. (Cortesía de Varian Instrument Division, Palo Alto, CA.)

- 19-27. El espectro de protón de la Figura 19-42 corresponde a un compuesto de fórmula empírica $C_4H_7BrO_2$. Identificar el compuesto.
- 19-28. El espectro de protón de la Figura 19-43 corresponde a un compuesto de fórmula empírica C_4H_8O . Identificar el compuesto.
- 19-29. El espectro de protón de la Figura 19-44 corresponde a un compuesto de fórmula empírica $C_4H_8O_2$. Identificar el compuesto.
- 19-30. Los espectros de protón de las Figuras 19-45a y 19-45b corresponden a compuestos de fórmula empírica C_7H_{10} . Identificar los compuestos.

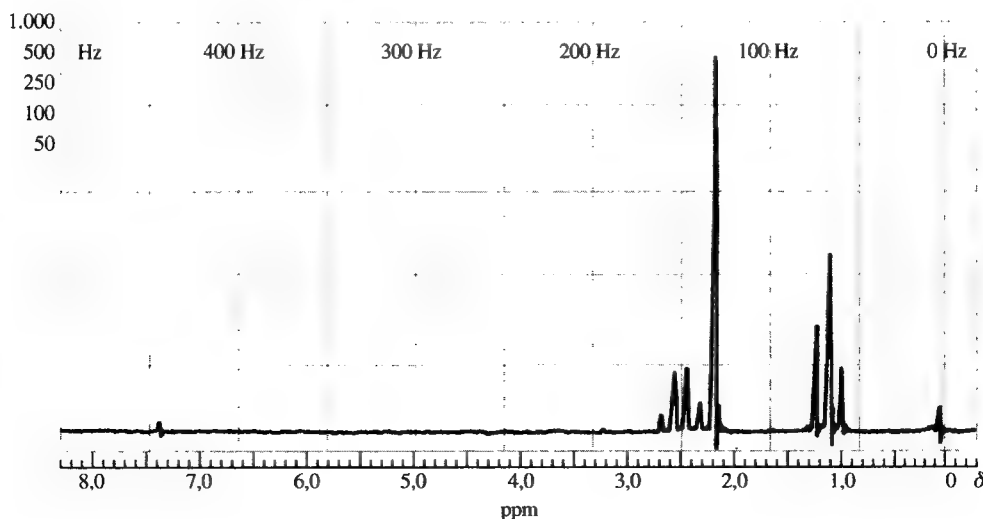


Figura 19-43. (Cortesía de Varian Instrument Division, Palo Alto, CA.)

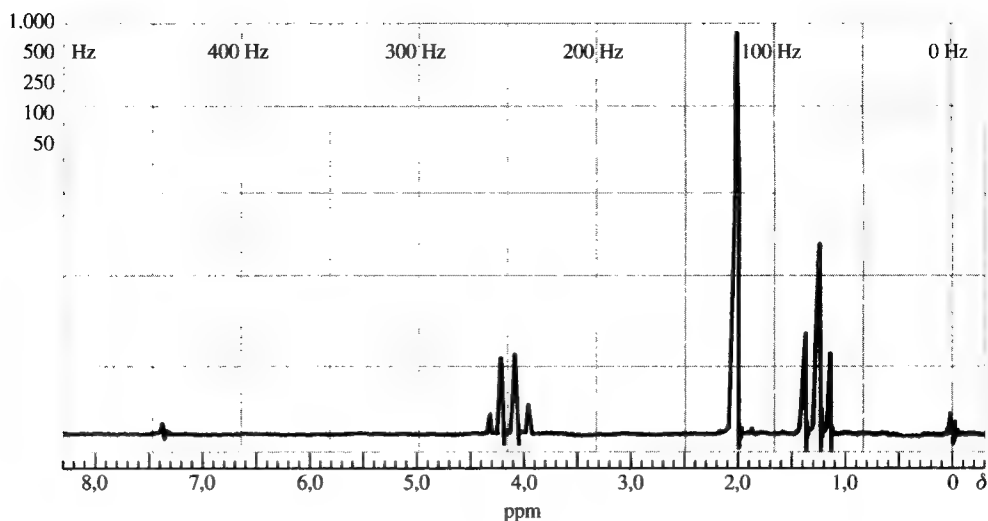
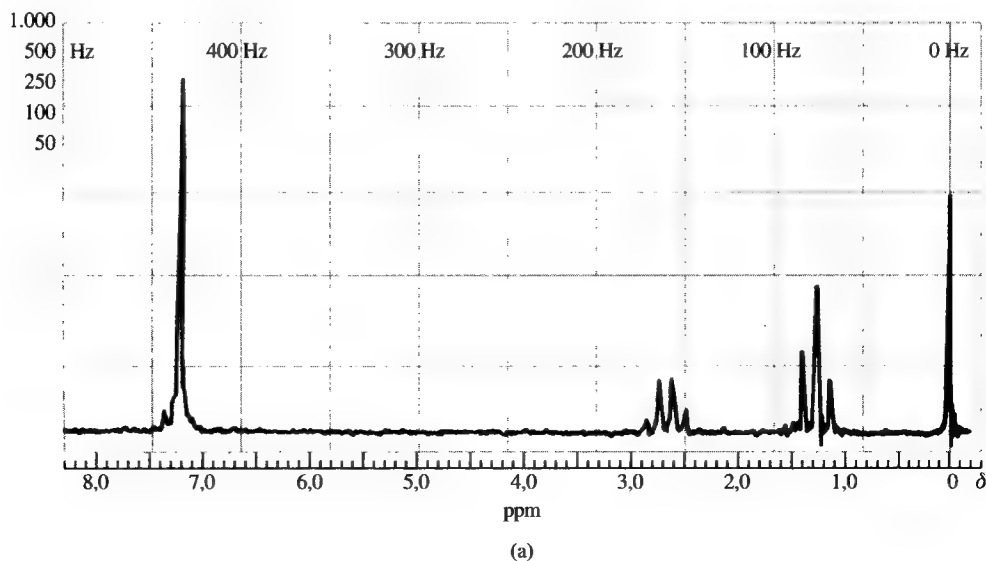


Figura 19-44. (Cortesía de Varian Instrument Division, Palo Alto, CA.)

- 19-31. A partir del espectro de protón de la Figura 19-46, deducir la estructura de este hidrocarburo.
- 19-32. A partir del espectro de protón dado en la Figura 19-47, determinar la estructura de este compuesto cuya fórmula empírica es $C_{10}H_{13}NO_2$, y que se utiliza normalmente como analgésico.
- 19-33. En un espectrómetro de RMN, ¿qué es un sistema de fijación (*lock*) de la frecuencia de campo? Describir los dos tipos de sistemas de fijación (*lock*).
- 19-34. ¿Qué se entiende por compensaciones (*shims*) en un espectrómetro de RMN, y para qué sirven?
- 19-35. ¿Por qué las muestras líquidas están girando mientras que se examinan en un espectrómetro de RMN?



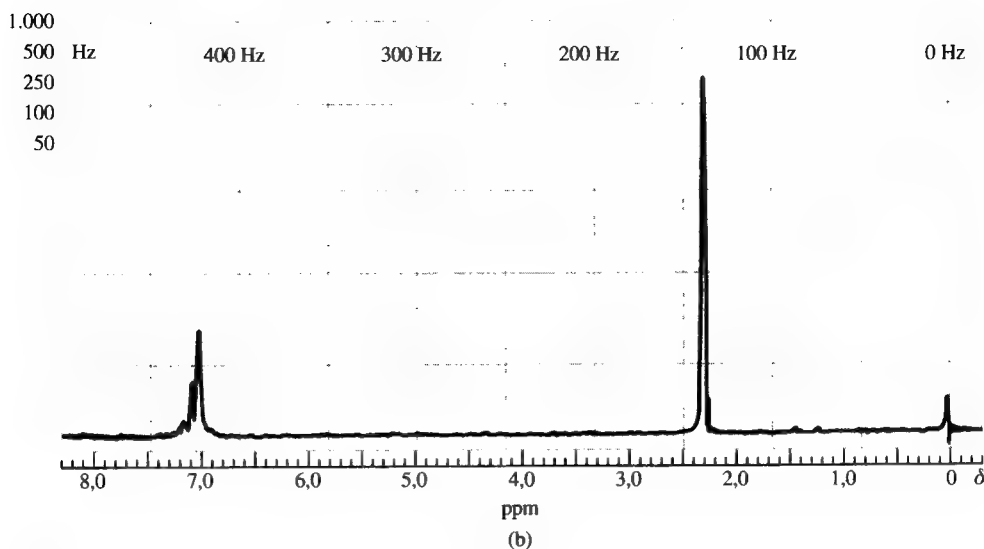


Figura 19-45. (Cortesía de Varian Instrument Division, Palo Alto, CA.)

- 19-36.** Explicar cómo se puede obtener una banda de frecuencias a partir de un oscilador que es esencialmente una fuente de radiación monocromática de radiofrecuencia. ¿Cómo se puede obtener una banda suficientemente ancha para cubrir el espectro completo de ^{13}C (200 ppm)?
- 19-37.** Describir el origen de las líneas espectrales plegadas.

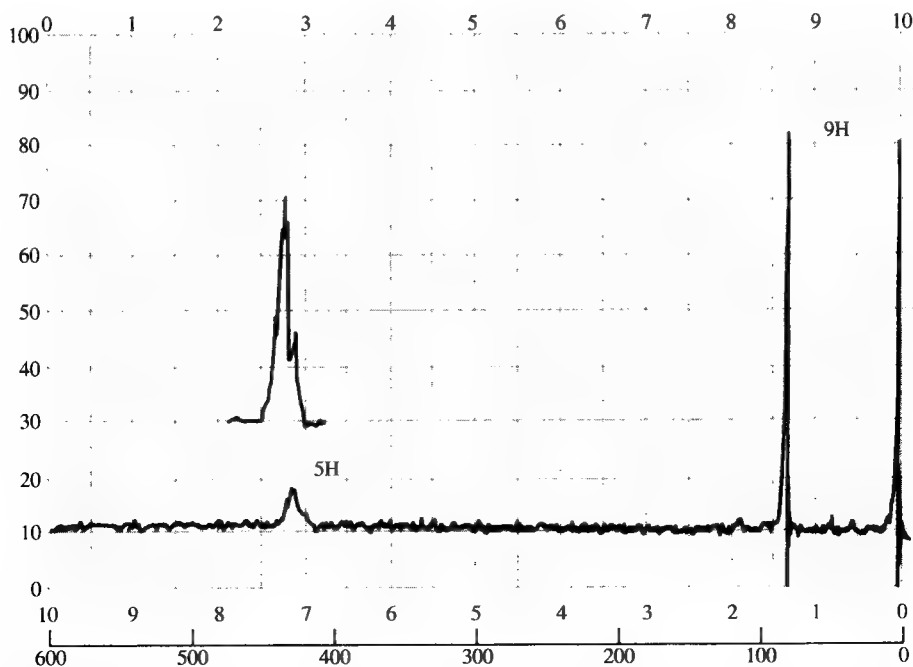


Figura 19-46. (Tomado con autorización de C. J. Pouchert, The Aldrich Library of NMR Spectra, 2.^a ed. Milwaukee, WI: The Aldrich Chemical Company.)

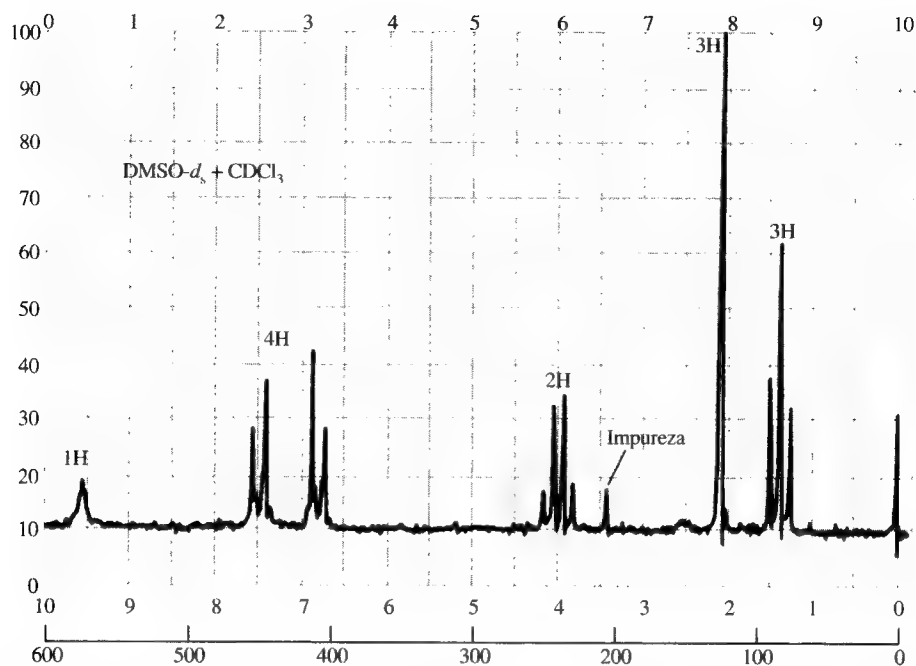
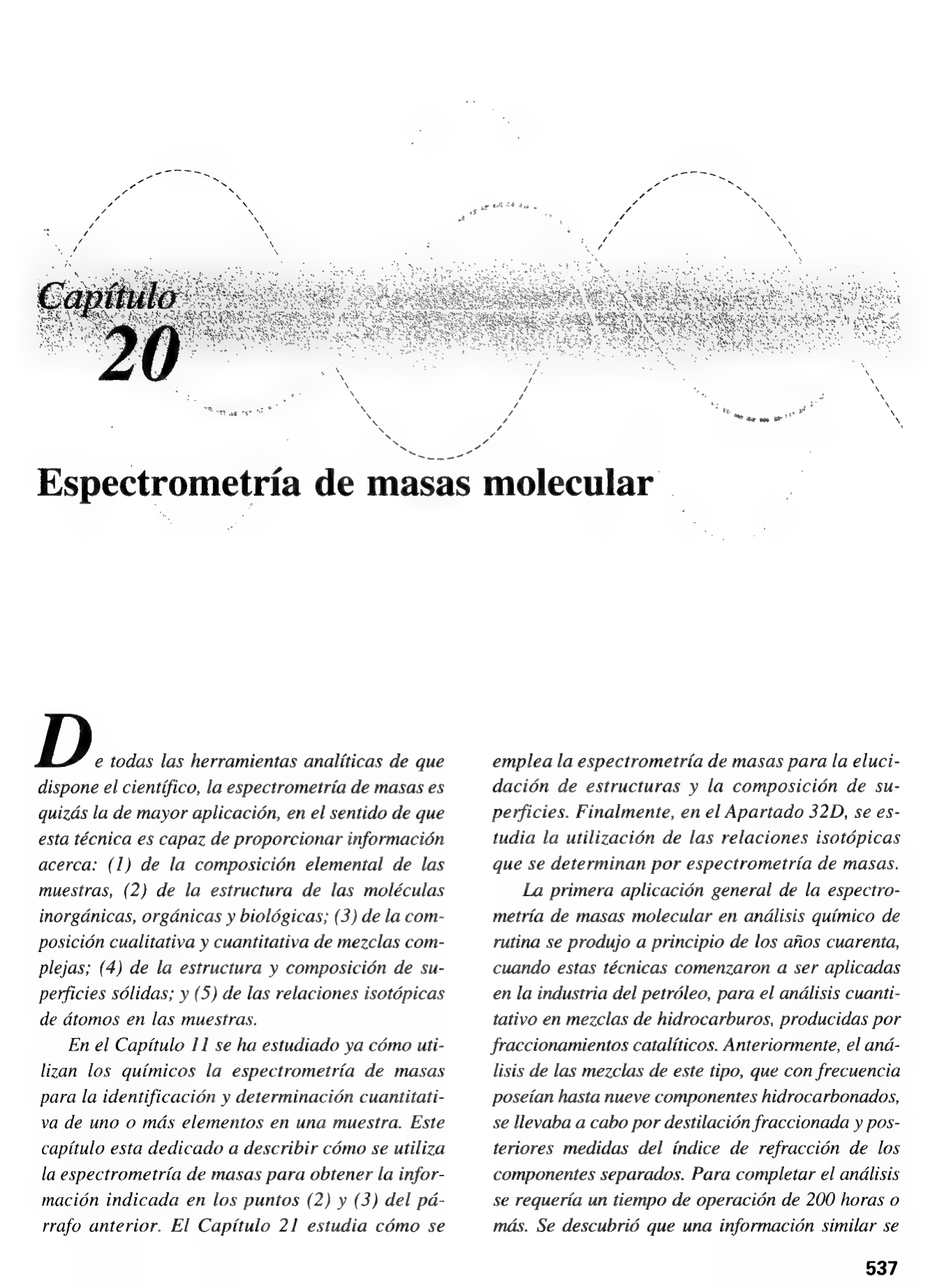


Figura 19-47. (Tomado con autorización de C. J. Pouchert, The Aldrich Library of NMR Spectra, 2.^a ed. Milwaukee, WI: The Aldrich Chemical Company.)

- 19-38.** En la espectroscopia de RMN, ¿cómo se transforman las señales en las de la región de audiofrecuencia?
- 19-39.** Explicar los principios de los detectores en cuadratura empleados en FT/RMN.
- 19-40.** Describir las diferencias entre el desacoplamiento de protón sin resonancia y de banda ancha en la espectroscopia de RMN de ^{13}C .
- 19-41.** ¿Qué es el efecto nuclear de Overhauser y cuál es su origen?
- 19-42.** ¿Cuáles son las causas del ensanchamiento de banda en los espectros de ^{13}C de los sólidos? ¿Cómo se estrechan las líneas para poder obtener espectros de alta resolución?



Capítulo 20

Espectrometría de masas molecular

De todas las herramientas analíticas de que dispone el científico, la espectrometría de masas es quizás la de mayor aplicación, en el sentido de que esta técnica es capaz de proporcionar información acerca: (1) de la composición elemental de las muestras, (2) de la estructura de las moléculas inorgánicas, orgánicas y biológicas; (3) de la composición cualitativa y cuantitativa de mezclas complejas; (4) de la estructura y composición de superficies sólidas; y (5) de las relaciones isotópicas de átomos en las muestras.

En el Capítulo 11 se ha estudiado ya cómo utilizan los químicos la espectrometría de masas para la identificación y determinación cuantitativa de uno o más elementos en una muestra. Este capítulo está dedicado a describir cómo se utiliza la espectrometría de masas para obtener la información indicada en los puntos (2) y (3) del párrafo anterior. El Capítulo 21 estudia cómo se

emplea la espectrometría de masas para la elucidación de estructuras y la composición de superficies. Finalmente, en el Apartado 32D, se estudia la utilización de las relaciones isotópicas que se determinan por espectrometría de masas.

La primera aplicación general de la espectrometría de masas molecular en análisis químico de rutina se produjo a principio de los años cuarenta, cuando estas técnicas comenzaron a ser aplicadas en la industria del petróleo, para el análisis cuantitativo en mezclas de hidrocarburos, producidas por fraccionamientos catalíticos. Anteriormente, el análisis de las mezclas de este tipo, que con frecuencia poseían hasta nueve componentes hidrocarbonados, se llevaba a cabo por destilación fraccionada y posteriores medidas del índice de refracción de los componentes separados. Para completar el análisis se requería un tiempo de operación de 200 horas o más. Se descubrió que una información similar se

podía obtener en tan sólo algunas horas o incluso menos, con un espectrómetro de masas. Esta eficaz mejora, supuso la aparición y rápido perfeccionamiento de los espectrómetros de masas comerciales. A comienzo de los años cincuenta, estos instrumentos comerciales empezaron a ser utilizados por los químicos para la identificación y elucidación estructural de una amplia variedad de compuestos orgánicos. Este uso de la espectrometría de masas junto con la invención de la resonancia magnética nuclear y el desarrollo de la espectrometría en el infrarrojo, revolucionaron el campo de trabajo de los químicos orgánicos respecto a la identificación y determinación de la estructura de las moléculas. Esta aplicación de la espectrometría de masas es aún de capital importancia.

En la década de los ochenta, las aplicaciones de esta técnica experimentaron grandes cambios como consecuencia del desarrollo de los métodos de producción de iones de moléculas no volátiles o termolábiles, muchas de ellas estudiadas con frecuencia por bioquímicos y biólogos. Desde aproximadamente 1990, ha habido un enorme crecimiento de la espectrometría de masas en el área biológica como consecuencia de los nuevos métodos de ionización. Actualmente esta técnica está siendo aplicada a la determinación de estructuras de polipéptidos, proteínas y otros biopolímeros de elevado peso molecular.

En este capítulo se describe en primer lugar, brevemente, la naturaleza de los espectros de masas, definiendo algunos términos utilizados en espectrometría de masas molecular. Posteriormente se consideran las diferentes técnicas que se utilizan para formar los iones a partir de las moléculas de analito en los espectrómetros de masas así como los tipos de espectros producidos por estas técnicas. Después se estudian con detalle los distintos tipos de espectrómetros de masas que se utilizan en esta técnica (diferentes de los instrumentos de cuadrupolo y de tiempo de vuelo, que se tratan con detalle en el Apartado 11B-2). Finalmente se describen algunas de las aplicaciones actuales de la espectrometría de masas molecular¹.

20A. ESPECTROS DE MASAS MOLECULARES

La Figura 20-1 ilustra la forma en que habitualmente se presentan los espectros de masas. El analito es etilbenceno y tiene una masa molecular de 10^6 daltons. Para obtener este espectro, se bombardea el vapor de etilbenceno, con un haz de electrones que da lugar a la pérdida de un electrón del analito y a la formación de un ion molecular M^+ como se muestra en la reacción



La especie cargada $C_6H_5CH_2CH_3^{*+}$ es el ion molecular. Como indica el asterisco, el ion molecular es un *ion radical* y tiene el mismo peso molecular que la molécula.

La colisión entre los electrones energéticos y las moléculas de analito, proporcionan en general a estas, suficiente energía para dejarlas en estado excitado. Posteriormente se produce la relajación, con frecuencia, mediante fragmentación de parte de los iones moleculares, que dan lugar a iones de masas más bajas. Por ejemplo, en el caso del etilbenceno, el producto mayor es el $C_6H_5CH_2^+$ que surge de la pérdida de un grupo CH_3 . También se forman, en menor cantidad, otros fragmentos más pequeños cargados positivamente.

Los iones positivos producidos por impacto de electrones pasan a través de la rendija del espectrómetro de masas, de donde salen de acuerdo con su relación masa /carga originándose un espectro de masas. La representación gráfica de la Figura 20-1 muestra la forma en la que habitualmente se presentan los datos espectrales de masas. Obsérvese que tiene la forma de un gráfico de barras, en cada una de las cuales se relaciona la intensidad relativa de los picos de masa con respecto a su relación masa-carga. Obsérvese asimismo que en cada es-

¹ Para monografías relacionadas con la espectrometría de masas molecular, véase F. A. White y G. M. Wood, *Mass Spectrometry: Applications in Science and Engineering*. New York: Wiley-Interscience, 1986; J. T. Watson, *Introduction to Mass Spectrometry*, 3.^a ed. New York: Lippincott-Raven, 1997; H. E. Duckworth, R. C. Barber y V. S. Venkatasubramanian, *Mass Spectroscopy*, 2.^a ed. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1986; M. E. Rose y A. W. Johnstone, *Mass Spectrometry for Chemists and Biochemists*. New York: Cambridge University Press, 1982; G. A. Eadon, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.^a ed., J. D. Winefordner, M. M. Bursey e I. M. Kolthoff, Eds., Parte I, Vol 11, Capítulo 1. New York: Wiley, 1989.

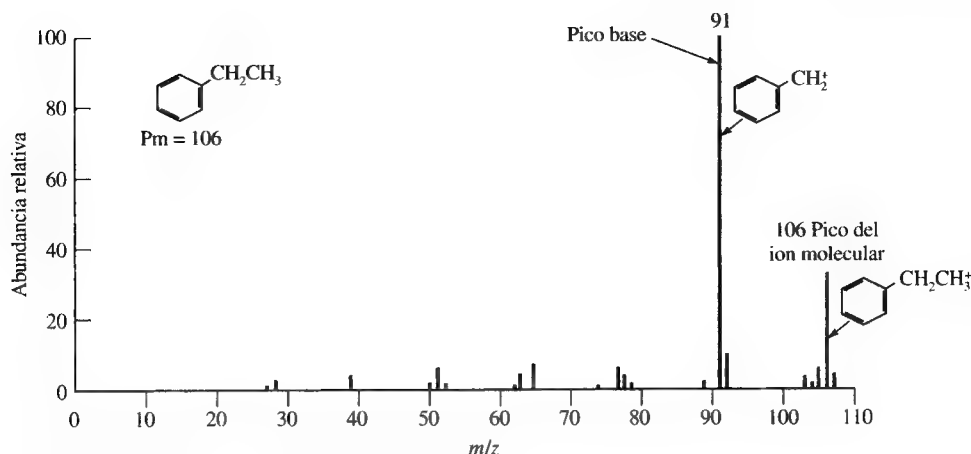


Figura 20-1. Espectro de masas del etilbenceno.

pectro, al pico más alto, denominado *pico base*, se le asigna el valor 100 de forma arbitraria. Se considera la altura del resto de los picos como un porcentaje de la altura del pico base. Los espectrómetros de masas modernos están programados para reconocer el pico base y ajustar el resto de los picos respecto a él.

20B. FUENTES DE IONES

El punto de arranque de un análisis por espectrometría de masas es la formación de iones del analito en forma gaseosa y la proyección y utilidad del mismo, está condicionada por el proceso de ionización. El aspecto de los espectros de masas para distintas especies moleculares, depende en gran medida del método utilizado para la formación de los iones. En la Tabla 20-1 se facilita un listado de numerosas fuentes de iones empleadas en espectrometría de masas molecular². Obsérvese que estos métodos pertenecen a dos categorías principales: *fuentes de fase gaseosa* y *fuentes de desorción*. En las primeras, que incluyen las tres primeras fuentes de la tabla, primero se volatiliza la muestra y luego se ioniza. En las siguientes, la muestra, en estado sólido o líquido, se transforma directamente en iones gaseosos. Una ventaja de las fuentes de de-

sorción es que son aplicables a muestras no volátiles y térmicamente inestables. Normalmente los espectrómetros de masas comerciales están equipados con accesorios que permiten el uso de varias de estas fuentes de forma intercambiable.

Las fuentes de fase gaseosa están generalmente restringidas a compuestos térmicamente estables que tengan puntos de ebullición menores de aproximadamente 500 °C. En la mayoría de los casos, estos requerimientos limitan la utilización de las fuentes de fase gaseosa a compuestos con pesos moleculares menores de aproximadamente 10^3 daltons. Las fuentes de desorción, en las que no se requiere la volatilización de las moléculas de analito, son aplicables a aquellos compuestos que tienen pesos moleculares mayores de 10^5 daltons.

Las fuentes de iones se clasifican a menudo en *fuentes duras* o *fuentes blandas*. Las fuentes duras comunican energía suficiente a las moléculas, de manera que se encuentran en un estado de energía altamente excitado. La relajación posterior, implica la rotura de las uniones, produciendo iones fragmentados con una relación masa carga menor que la del ion molecular. Las fuentes blandas dan lugar a poca fragmentación. En consecuencia, el espectro de masas resultante, consta del pico del ion molecular y sólo alguno o incluso ningún otro pico. La Figura 20-2 muestra la diferencia que presenta un espectro obtenido con una fuente dura y otro con una fuente blanda.

Ambos tipos de espectros son útiles en análisis. El espectro complejo de una fuente dura proporciona información útil acerca de la naturaleza de los grupos funcionales, así como información estructu-

² Para una revisión de las fuentes de iones modernas, véase R. P. Lattimer y H. R. Schulten, *Anal. Chem.*, **1989**, *61*, 1201A; K. L. Busch y R. G. Cooks, *Science*, **1982**, *218*, 247; E. R. Grant y R. G. Cooks, *Science*, **1990**, *250*, 61; R. J. Cotter, *Anal. Chem.*, **1988**, *60*, 781A; J. B. Fenn, y col., *Science*, **1989**, *246*, 64.

TABLA 20-1. Fuentes de iones en espectrometría de masas molecular

Tipo	Nombre y acrónimo	Agente ionizante
Fase gaseosa	Impacto de electrones (EI)	Electrones energéticos
	Ionización química (CI)	Iones gaseosos reactivos
	Ionización por campo (FI)	Electrodo de elevado potencial
Desorción	Desorción por campo (FD)	Electrodo de elevado potencial
	Ionización por electrospray (ESI)	Campo eléctrico elevado
	Desorción/ionización asistida por una matriz (MALDI)	Haz de láser
	Desorción por plasma (PD)	Fragmentos de fisión del ^{252}Cf
	Bombardeo con átomos rápidos (FAB)	Haz de átomos energéticos
	Espectrometría de masas de iones secundarios (SIMS)	Haz de iones energéticos
	Ionización por termonebulización (TS)	Elevada temperatura

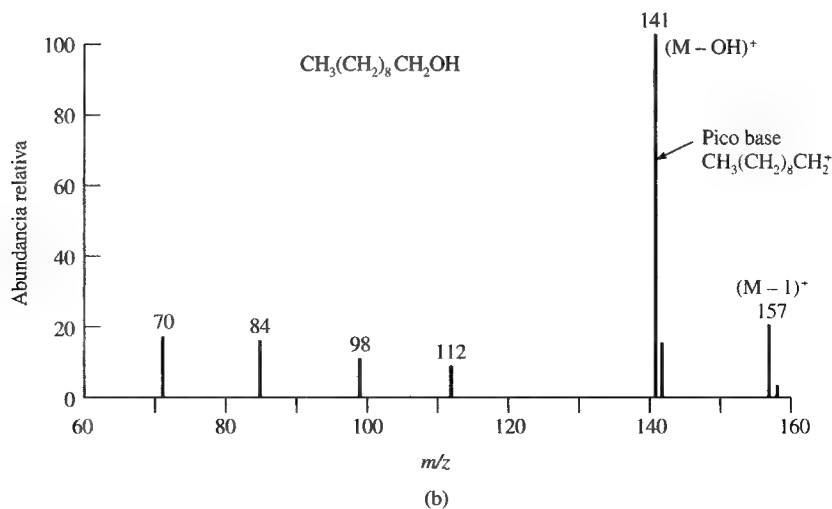
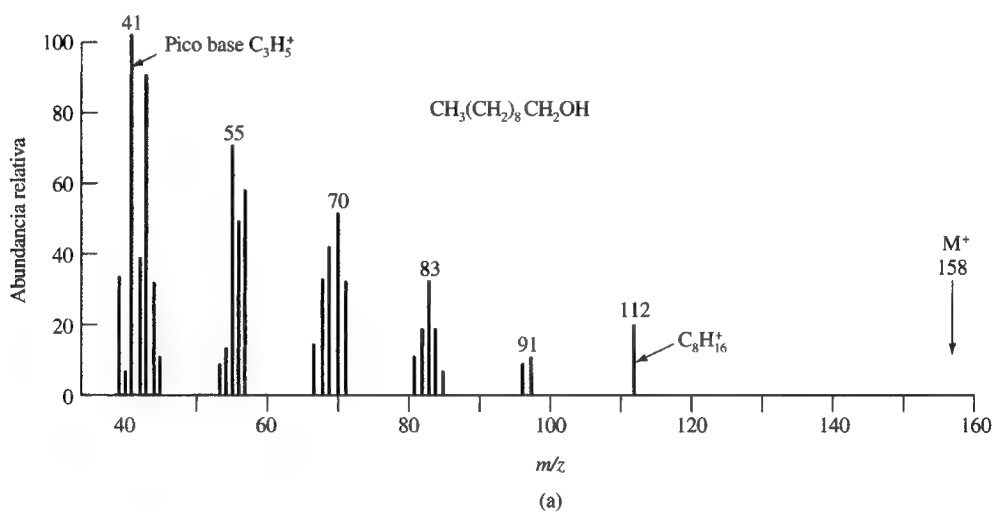


Figura 20-2. Espectros de masas del 1-decanol: (a) con una fuente dura; (b) con una fuente blanda.

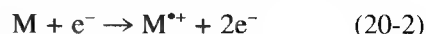
ral de los analitos. Los espectros de una fuente blanda son útiles, ya que permiten la determinación exacta del peso molecular de la molécula o moléculas.

20B-1. Fuente de impacto de electrones

Anteriormente, los iones para análisis de masas se producían por bombardeo de electrones. En este caso la muestra se sometía a una temperatura suficientemente elevada como para producir un vapor molecular, el cual posteriormente se ioniza bombardeando las moléculas originadas con un haz de electrones de elevada energía. A pesar de ciertas desventajas, esta técnica es todavía de gran importancia y es la que se ha utilizado para obtener la mayor parte de los espectros que componen las colecciones de espectros.

La Figura 20-3 muestra el diagrama de una fuente de iones de impacto de electrones sencilla. Los electrones son emitidos por un filamento caliente de wolframio o de renio y se aceleran mediante un potencial de aproximadamente 70 V que se aplica entre el filamento y el ánodo. Como se muestra en la figura, las trayectorias de los electrones y las moléculas, están en ángulo recto y se cruzan en el centro de la fuente donde colisionan y tiene lugar la ionización. El producto primario son iones de una única carga positiva que se forman cuando los electrones de elevada energía se acercan suficientemente a las moléculas como para causarles la pérdida de electrones por repulsión electrostática. La ionización por impacto de electrones no es muy eficaz y sólo alrededor de una

molécula entre un millón experimenta la reacción primaria



Donde M representa la molécula de analito y M^{*+} es su ion molecular. Los iones positivos producidos en un impacto de electrones son atraídos a través de la rendija hacia la primera placa de aceleración mediante una pequeña diferencia de potencial (normalmente 5V) que se aplica entre esta placa y las placas repulsoras que se muestran en la Figura 20-3. En los instrumentos de sector magnético, se aplican a las placas aceleradoras potenciales elevados (10^3 a 10^4 V), que permiten a los iones alcanzar sus velocidades finales antes de que entren en el analizador de masas. Las fuentes comerciales de impacto de electrones son más complejas que las que se muestran en la Figura 20-3 y pueden utilizarse campos electrostáticos o magnéticos adicionales para manipular el haz de electrones y/o de iones.

EJEMPLO 20-1

(a) Calcular la energía cinética que adquiriría un ion monovalente ($z=1$) si fuese acelerado mediante un potencial de 10^3 V en una fuente de impacto de electrones. (b) ¿Depende la energía cinética de este ion de su masa? (c) ¿Depende la velocidad del ion de su masa?

(a) La energía cinética (EC) suministrada al ion se debe al potencial de aceleración V y viene dado por la ecuación

$$EC = qV = zeV$$

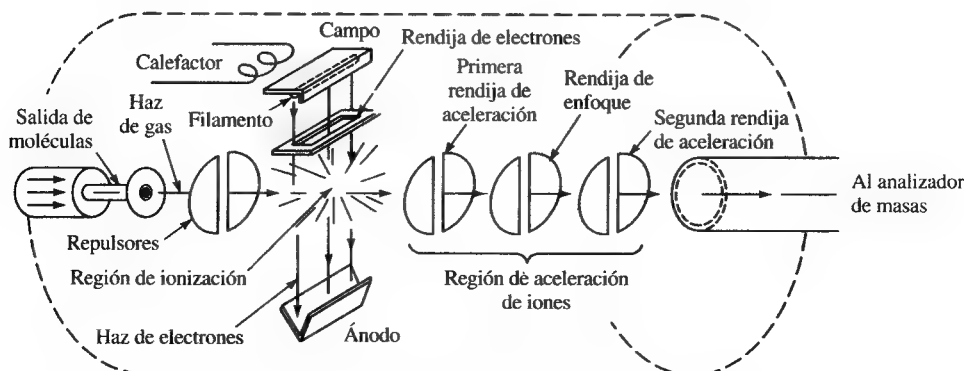


Figura 20-3. Fuente de impacto de electrones. (De R. M. Silverstein, G. C. Bassler y T. C. Morrill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5.^a ed., pág. 4. New York: Wiley, 1991. Reproducido con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

donde e es la carga electrónica ($1,6 \times 10^{-19}$ coulombios). Por tanto, para $z = 1$

$$EC = 1 \times 1,6 \times 10^{-19} \text{ C} \times 10^3 \text{ V} = 1,6 \times 10^{-16} \text{ J}$$

- (b) La energía cinética que adquiere un ion en la fuente es independiente de su masa y solo depende de su carga y del potencial de aceleración.
- (c) La componente translacional de la energía cinética de un ion es función de la masa del ion m y de su velocidad v tal como viene dado por la ecuación

$$EC = (1/2) mv^2 \quad \text{o} \quad v = (2 EC/m)^{1/2}$$

De modo que, si todos los iones adquieren la misma cantidad de energía cinética, aquellos iones con masas mayores deben tener velocidades menores.

Espectros de masas de impacto de electrones

Con objeto de formar un número significativo de iones gaseosos en una proporción reproducible, es necesario que los electrones generados por el filamento sean acelerados mediante un potencial mayor de unos 50 V. La pequeña masa y la alta energía cinética de los electrones resultantes, produce pequeños aumentos en la energía translacional de las moléculas con las que chocan. En cambio, las moléculas adquieren estados vibracionales y rotacionales excitados. La subsecuente relajación tiene lugar normalmente mediante una elevada fragmentación que da lugar a un gran número de iones positivos de diversas masas que son menores (y en ocasiones mayores) que la del ion molecular. Estos iones de masas más bajas se llaman *iones hijos*. La Tabla 20-2 muestra algunas reacciones de fragmentación características que se producen después de la formación por impacto de electrones de un ion progenitor a partir de una hipotética molécula ABCD.

Los complejos espectros de masas que se obtienen en la ionización por impacto de electrones son útiles para la identificación de compuestos. Por otra parte, para cierto tipo de moléculas, la fragmentación es tan efectiva que no queda ningún ion molecular, por tanto la información más importante para la determinación del peso molecular se pierde. La Figura 20-4 muestra los espectros de impacto de electrones de dos moléculas orgánicas

sencillas: el cloruro de metileno y el 1-pentanol. Obsérvese que en cada uno de los espectros, el pico base corresponde a un fragmento de la molécula que tiene una masa significativamente menor que la masa molecular del compuesto original. Para el cloruro de metileno, el pico base aparece a una masa de 49, que corresponde a la pérdida de un átomo de Cl. Para el 1-pentanol el pico base se encuentra a una m/z de 44, que es la del ion hijo CH_2CHOH^+ . Normalmente en los espectros de impacto de electrones, los picos base corresponden a fragmentos como éstos y no al del ion molecular.

En cada caso, el pico del ion molecular aparece a la masa correspondiente al peso molecular del analito. Así, se observan picos de ion molecular a 84 para el cloruro de metileno y 88 para el 1-pentanol. El pico del ion molecular es, naturalmente, de gran importancia en las determinaciones estructurales ya que su masa proporciona el peso molecular del analito. Desafortunadamente, no siempre es posible identificar el pico del ion molecular. De hecho, ciertas moléculas no dan pico de ion molecular cuando se realiza una ionización por impacto de electrones (véase Fig. 20-2a).

EJEMPLO 20-2

(a) Calcular la energía que adquieren los electrones (en J/mol) como resultado de ser acelerados por un potencial de 70 V. (b) Comparar esta energía con la de un enlace químico típico.

- (a) La energía cinética EC de un electrón individual es igual al producto de la carga del electrón e por el potencial V mediante el cual ha sido acelerado. Multiplicando la energía cinética de un único electrón por el número de Avogadro, N , se obtiene la energía por mol.

$$\begin{aligned} EC &= eVN \\ &= (1,60 \times 10^{-19} \text{ C/e}^-)(70 \text{ V})N \\ &= (1,12 \times 10^{-17} \text{ CV/e}^-)(6,02 \times 10^{23} \text{ e}^-/\text{mol}) \\ &= 6,7 \times 10^6 \text{ J/mol o } 6,7 \times 10^3 \text{ kJ/mol} \end{aligned}$$

- (b) Las energías de enlace típicas se sitúan en el intervalo de 200 a 600 kJ/mol. Por tanto, un electrón que ha sido acelerado con 70 V posee generalmente una energía considerablemente mayor de la necesaria para romper un enlace químico.

TABLA 20-2. Algunas reacciones características en una fuente de impacto de electrones

Formación del ion molecular	
Fragmentación	$ABCD + e^- \rightarrow ABCD^{*+} + 2e^-$ $ABCD^{*+} \rightarrow A^+ + BCD^*$ $A^* + BCD^+ \rightarrow BC^+ + D$ $CD^* + AB^+ \rightarrow \begin{cases} B + A^+ \\ A + B^+ \end{cases}$ $AB^* + CD^+ \rightarrow \begin{cases} D + C^+ \\ C + D^+ \end{cases}$
Reordenamiento seguido de fragmentación	$ABCD^{*+} \rightarrow ADBC^{*+} \rightarrow \begin{cases} BC^* + AD^+ \\ AD^* + BC^+ \end{cases}$
Colisión seguida de fragmentación	$ABCD^{*+} + ABCD \rightarrow (ABCD)^{*2+} \rightarrow BCD^* + ABCDA^+$

Picos de los isótopos

Es interesante señalar que en los espectros que se muestran en las Figuras 20-1 y 20-4, aparecen picos que corresponden a masas mayores que la del ion molecular. Estos picos se pueden atribuir a iones que tienen la misma fórmula química pero diferentes composiciones isotópicas. Por ejemplo, para el cloruro de metileno, las especies isotópicas más importantes son $^{12}\text{C}^1\text{H}_2^{35}\text{Cl}_2$ ($m = 84$), $^{13}\text{C}^1\text{H}_2^{35}\text{Cl}_2$ ($m = 85$), $^{12}\text{C}^1\text{H}_2^{35}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ ($m = 86$), $^{13}\text{C}^1\text{H}_2^{35}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ ($m = 87$), $^{12}\text{C}^1\text{H}_2^{37}\text{Cl}_2$ ($m = 88$). Los picos de cada una de estas especies se pueden ver en la Figura 20-4a. El tamaño de los diferentes picos depende de la abundancia natural relativa de los isótopos. La Tabla 20-3 enumera los isótopos más comunes de los átomos que aparecen normalmente en los compuestos orgánicos. Hay que señalar que el flúor, el fósforo, el yodo y el sodio, aparecen sólo como un único isótopo.

En la Figura 20-1, el pequeño pico del etilbenceno correspondiente a la masa de 107, se debe a la presencia de ^{13}C en alguna de las moléculas. Las intensidades de los picos debidos a la incorporación de dos o más átomos de ^{13}C en el etilbenceno, se puede predecir con buena precisión pero son tan pequeños que no son detectables debido a la baja probabilidad de que haya más de un átomo de ^{13}C en una molécula de pequeño tamaño. Como se verá en el Apartado 20D-1, los picos de los isótopos proporcionan a menudo un medio útil para la determinación de la fórmula de un compuesto.

Picos resultantes de las colisiones

Las colisiones ion-molécula tales como las que muestra la última ecuación de la Tabla 20-2 pueden producir picos que corresponden a masas más elevadas que la del ion molecular. Sin embargo, a presiones normales de la muestra, la única reacción importante de este tipo es aquella en la que, por medio de las colisiones, se transfiere un átomo de hidrógeno al ion para dar un ion molecular protonado; el resultado es un pico intenso $(M + 1)^+$. Esta transferencia es una reacción de segundo orden y la cantidad de producto, depende en gran medida de la concentración de reaccionante. En consecuencia, la altura de un pico $(M + 1)^+$, debido a esta reacción, aumenta más rápidamente al aumentar la presión de la muestra de lo que lo hacen las alturas de los otros picos, por lo que normalmente la detección de esta reacción es posible.

Ventajas e inconvenientes de las fuentes de impacto de electrones

Las fuentes de impacto de electrones son adecuadas para el uso y producción de corrientes de iones elevadas, obteniéndose buenas sensibilidades. La extensa fragmentación y consecuentemente el elevado número de picos, es también una ventaja ya que a menudo permite identificaciones inequívocas de los posibles analitos, no obstante, esta fragmentación puede ser también un inconveniente cuando da lugar a la desaparición del pico del ion molecu-

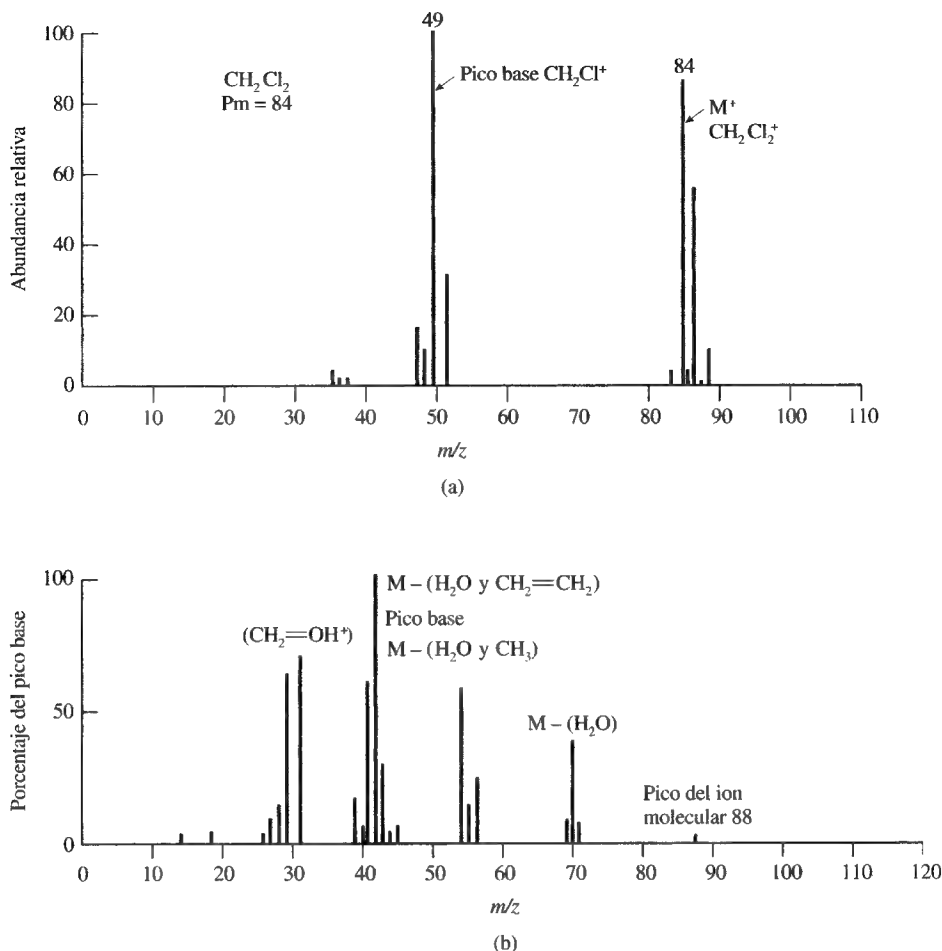


Figura 20-4. Espectros de masas por impacto de electrones del (a) cloruro de metileno y (b) 1-pentanol.

lar ya que impide establecer el peso molecular del analito. Otra limitación de estas fuentes es la necesidad de volatilizar la muestra, porque puede dar lugar a una degradación térmica de algunos analitos antes de que se produzca la ionización. Los efectos de la descomposición térmica se pueden a veces minimizar realizando la volatilización en una sonda caliente que se sitúa cerca de la rendija de entrada del espectrómetro. Cuanto menor es la presión en el área de la fuente más baja es la temperatura a la que se produce la volatilización. Además la descomposición térmica se realiza en menos tiempo.

Como se ha comentado anteriormente, las fuentes de impacto de electrones son sólo aplicables a analitos con pesos moleculares menores de aproximadamente 10^3 daltons.

20B-2. Fuentes y espectros de ionización química

Los espectrómetros de masas más modernos están diseñados para poder realizar la ionización de impacto de electrones y la ionización química, de forma intercambiable. En la ionización química, los átomos gaseosos de la muestra (tanto de un sistema de entrada indirecto como de una sonda caliente) se ionizan al colisionar con los iones producidos al bombardear con electrones un exceso de gas reactivo. Normalmente se utilizan iones positivos, aunque la ionización química de iones negativos se utiliza ocasionalmente en aquellos analitos que contienen átomos muy electronegativos³. La ioni-

³ R. C. Dougherty, *Anal. Chem.*, **1981**, 53, 625A.

TABLA 20-3. Abundancia natural de los isótopos de los elementos más frecuentes

Elemento ^a	Isótopo más abundante	Abundancia de otros isótopos relativa a 100 partes del más abundante ^b	
Hidrógeno	¹ H	² H	0,015
Carbono	¹² C	¹³ C	1,08
Nitrógeno	¹⁴ N	¹⁵ N	0,37
Oxígeno	¹⁶ O	¹⁷ O	0,04
		¹⁸ O	0,20
Azufre	³² S	³³ S	0,80
		³⁴ S	4,40
Cloro	³⁵ Cl	³⁷ Cl	32,5
Bromo	⁷⁹ Br	⁸¹ Br	98,0
Sílice	²⁸ Si	²⁹ Si	5,1
		³⁰ Si	3,4

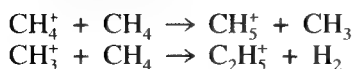
^a Flúor (¹⁹F), fósforo (³¹P), sodio (²³Na) e iodo (¹²⁷I) no tienen más isótopos presentes en la naturaleza.

^b Los valores numéricos indican el número promedio de átomos isotópicos presentes por cada 100 átomos del isótopo más abundante; así, por cada 100 átomos de ¹²C habrá un promedio de 1,08 átomos de ¹³C.

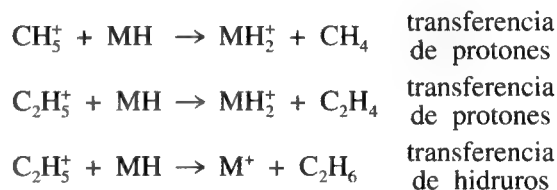
zación química es probablemente el segundo de los procedimientos más utilizados para la producción de iones en espectrometría de masas⁴.

Para llevar a cabo experimentos mediante ionización química, es necesario modificar la zona de ionización del haz de electrones, que se muestra en la Figura 20-3, incrementando la capacidad de la bomba de vacío y reduciendo la anchura de la rendija que conduce al analizador de masas. Estas medidas permiten mantener una presión del reactivo de aproximadamente 1 torr en el área de ionización mientras se mantiene una presión en el analizador por debajo de 10⁻⁵ torr. Con estos cambios se introduce un reactivo gaseoso en la región de ionización en una cantidad tal que la relación de concentración entre el reactivo y la muestra sea de 10³ a 10⁴. Debido a esta gran diferencia de concentración el haz de electrones reacciona casi exclusivamente con las moléculas de reactivo.

Uno de los reactivos más comunes es el metano, que reacciona con electrones de elevada energía para dar varios iones como CH₄⁺, CH₃⁺ y CH₂⁺. Los dos primeros predominan y representan aproximadamente el 90 por 100 de los productos de reacción. Estos iones reaccionan rápidamente con moléculas de metano adicionales como sigue:



Generalmente, las colisiones entre la molécula de la muestra MH y CH₃⁺ o C₂H₅⁺ son muy reactivas e implican la transferencia de protones o de hidruros. Por ejemplo,



Obsérvese que las reacciones de transferencia de protones dan el ion (M + 1)⁺ mientras que la transferencia de hidruros produce un ion con una masa una unidad inferior a la del analito, que es el ion (M - 1)⁺. En algunos compuestos, también se encuentra un pico (M + 29)⁺, que resulta de la transferencia de un ion C₂H₅⁺ al analito. Una gran variedad de reactivos, tales como propano, isobutano y amoníaco, se utilizan para la ionización química. Cada uno de ellos produce un espectro diferente con el mismo analito.

La Figura 20-2 compara los espectros de ionización química y de impacto de electrones para el 1-decanol. El espectro de impacto de electrones (Fig. 20-2a) pone de manifiesto la elevada y rápida fragmentación del ion molecular. No se observan picos detectables por encima de la masa de 112, que corresponde al ion C₈H₁₆⁺.

El pico base lo proporciona el ion C₃H₅⁺ que corresponde a una masa de 41 y otros picos para varias especies C₃ se agrupan alrededor del pico base.

⁴ Para un estudio más detallado sobre la ionización química, véase B. Munson, *Anal. Chem.*, **1977**, *49*, 772A; A. Harrison, *Chemical Ionization Mass Spectrometry*. Boca Raton, FL CRC Press, 1983.

Series similares de picos que aparecen a 14, 28 y 42 unidades de masa superiores, corresponden a los iones con uno, dos y tres grupos CH_2 adicionales.

Comparado con el espectro de impacto de electrones, el espectro de ionización química que se muestra en la Figura 20-2b es mucho más sencillo y consta del pico $(M - 1)^+$, un pico base correspondiente al ion molecular que ha perdido un grupo OH y una serie de picos que difieren uno de otro en 14 unidades de masa. Como en el espectro de impacto de electrones, estos picos surgen de los iones formados por rotura de los enlaces carbono-carbono adyacentes. Como ya se ha dicho, los espectros de ionización química generalmente contienen picos $(M + 1)^+$ o $(M - 1)^+$ bien definidos que resultan de la adición o sustracción de un protón en presencia del ion reactivo.

20B-3. Fuentes y espectros de ionización por campo⁵

En las fuentes de ionización por campo, los iones se forman bajo la influencia de un campo eléctrico elevado (10^8 V/cm). Esos campos se producen al aplicar elevados potenciales (10 a 20 kV) a emisores especialmente contruidos, que están formados por numerosas puntas finas cuyos diámetros son menores de $1\ \mu\text{m}$. A menudo estos emisores, adquieren la forma de un fino hilo de wolframio ($\approx 10\ \mu\text{m}$ de diámetro) en el cual se han formado dendritas o filamentos microscópicos de carbono por pirólisis de benzonitrilo en un campo eléctrico elevado. El resultado de este tratamiento es la aparición de centenares de microagujas de carbón que emergen desde la superficie del hilo.

Los emisores de ionización por campo se colocan a una distancia de 0,5 a 2 mm del cátodo, el cual a menudo también sirve de rendija. La muestra gaseosa procedente de un sistema de entrada indirecto puede difundir hacia el área de campo elevado, alrededor de las microagujas del ánodo. El campo eléctrico se concentra en las agujas emisoras y la ionización se produce por un mecanismo de efecto túnel de mecánica cuántica en el que los electrones del analito son extraídos por las micro-

agujas del ánodo. En este caso el analito adquiere poca energía vibracional y rotacional; por lo que tiene lugar poca fragmentación.

La Figura 20-5 muestra los espectros obtenidos para el ácido glutámico por (a) ionización por impacto de electrones y (b) ionización por campo. En el espectro de impacto de electrones, el pico del ion progenitor a una masa de 147 no es detectable. El mayor pico observable (masa 129) se debe a la pérdida de agua del ion molecular y el pico base a una masa de 84 se obtiene a partir de la pérdida de agua además de un grupo $-\text{COOH}$. A masas más bajas aparecen también otros muchos fragmentos. Por el contrario, el espectro de ionización por campo es relativamente sencillo, con un pico fácilmente distinguible $(M + 1)^+$ que corresponde a una masa de 148.

Una limitación de la ionización por campo es su sensibilidad, que es al menos un orden de magnitud inferior a la de las fuentes de impacto de electrones, las corrientes máximas son del orden de 10^{-11} A.

20B-4. Fuentes de desorción⁶

Los métodos de ionización descritos requieren que los agentes de ionización actúen sobre muestras gaseosas. Tales métodos no son aplicables a muestras no volátiles o térmicamente inestables. En las dos últimas décadas se han desarrollado numerosos métodos de ionización por desorción para tratar este tipo de muestras (véase Tabla 20-1). Como consecuencia, actualmente se puede obtener información sobre espectros de masas de especies bioquímicas térmicamente delicadas y especies que tienen pesos moleculares superiores a 10.000 daltons.

Los métodos de desorción prescinden de la volatilización y de la posterior ionización de la molécula de analito. En su lugar, se suministra energía a la muestra sólida o líquida de diversas maneras, de modo que se provoca la formación directa de iones gaseosos. Como consecuencia, se obtienen espectros muy simplificados y a menudo consisten sólo en el ion molecular o el ion molecular protonado. En la mayoría de los casos, se desconoce el procedimiento exacto de cómo se producen los iones sin fragmentación. En este apartado se describen algunos de estos métodos.

⁵ Para una revisión de este tipo de fuentes, véase R. P. Lattimer y H. R. Schulten, *Anal. Chem.*, **1989**, 61, 1201A; T. Komori, T. Kawasaki, y H. R. Schulten, *Mass Spectrom. Rev.*, **1985**, 4, 155.

⁶ Para una discusión general de los métodos de desorción, véase K. L. Busch y R. G. Cooks, *Science*, **1982**, 218, 247.

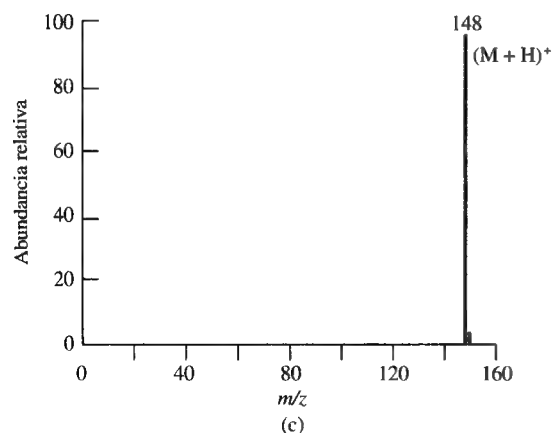
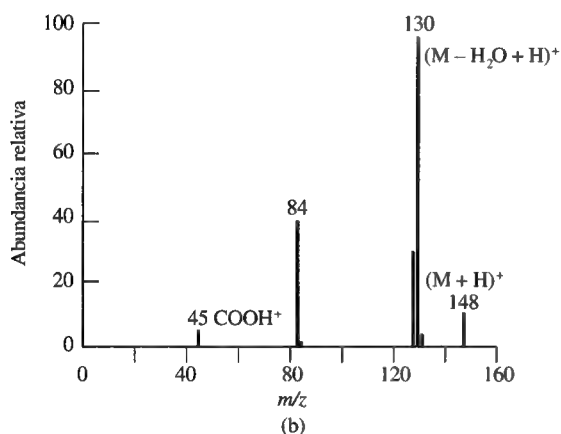
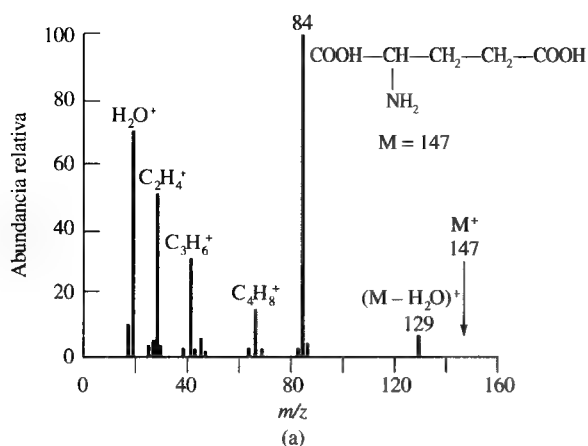


Figura 20-5. Espectros de masas del ácido glutámico: (a) ionización de impacto de electrones, (b) ionización por campo, (c) desorción por campo. (De H. D. Beckey, A. Heindrich y H. U. Winkler, *Int. J. Mass Spec. Ion Phys.*, **1970**, 3, App. 11. Con autorización.)

Fuentes de desorción por campo⁷

En la desorción por campo, se utiliza un emisor con múltiples puntas similar al descrito en el Apartado 20B-3. En este caso, el electrodo se coloca sobre una sonda que puede retirarse del compartimento de la muestra y recubrirse con una disolución de la muestra. Después de reinsertar la sonda en el compartimento de la muestra, la ionización se produce por la aplicación de un potencial elevado a este electrodo. En algunas muestras es necesario calentar el emisor, haciendo pasar una corriente. Como consecuencia puede ocurrir una degradación térmica antes de completarse la ionización.

La Figura 20-5c corresponde a un espectro de desorción por campo del ácido glutámico. Es incluso más sencillo que el espectro de ionización por campo observándose tan sólo el pico del ion molecular protonado a la masa de 148 y el de un isótopo a una masa de 149.

Desorción/ionización por láser asistida por una matriz

La espectrometría de desorción/ionización por láser asistida por una matriz (MALDI) es un método de ionización nuevo que permite obtener información sobre los pesos moleculares exactos de biopolímeros polares en un intervalo de masas moleculares de algunos miles a varios cientos de miles de daltons. El método fue descrito por primera vez en 1988 y casi simultáneamente, por dos grupos de investigación, uno alemán y otro japonés⁸.

En la técnica desarrollada por el grupo alemán, se mezcla una disolución acuosa /alcohólica de la muestra con un gran exceso de una sustancia matriz que absorbe la radiación, tal como alguna de las relacionadas en la Tabla 20-4. La disolución resultante se evapora en la superficie de una sonda metálica que se utiliza para la introducción de la muestra. La mezcla sólida se expone a la acción de un haz de láser pulsante, provocándose la sublimación del analito a iones que son introducidos en un

⁷ Para revisiones de este tipo de fuentes, véase L. Prakai, *Field Desorption Mass Spectrometry*. New York: Marcel Dekker, 1989; R. P. Lattimer y H. R. Schulten, *Anal. Chem.*, **1989**, 61, 1201A; T. Kormori, T. Kawasaki, y H. R. Schulten, *Mass Spectrom. Rev.*, **1985**, 4, 255.

⁸ Véase M. Karas y F. Hillenkamp, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, 2299; K. Tanaka, H. Waki, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida, y T. Yoshida, *Rapid Commun. Mass Spectro.*, **1988**, 2, 151. Véase también F. Hillenkamp, M. Karas y B. T. Chait, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 1193A.

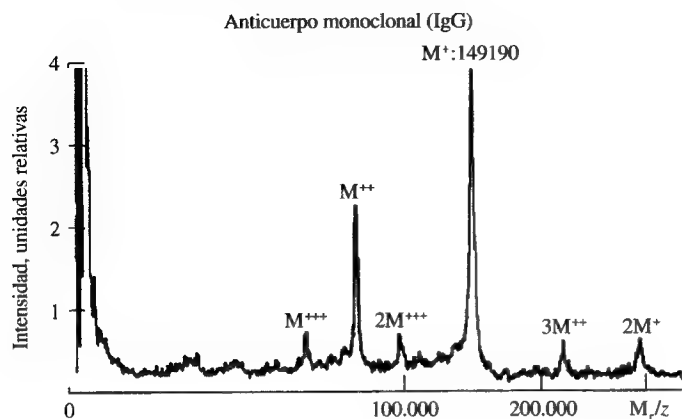


Figura 20-6. Espectro MALDI con una matriz de ácido nicotínico irradiada con un haz láser de 266 nm. (De M. Karas y U. Bahr, *Trends Anal., Chem.*, **1990**, 9, 323.)

TABLA 20-4. Matrices de uso más frecuente en MALDI, junto con las longitudes de onda utilizadas*

Matriz	Longitud de onda (nm)
Ácido nicotínico	266, 220-290
Derivados del ácido benzoico:	
Ácido 2,5-dihidroxibenzoico	266, 337, 355
Ácido vanílico	266
Ácido 2-aminobenzoico	266, 337, 355
Ácido pirazinacarboxílico	266
Ácido 3-aminopirazina-2-carboxílico	337
Derivados del ácido cinámico:	
Ácido ferúlico	266, 377, 355
Ácido sinapínico	266, 337, 355
Ácido cafeico	266, 337, 355
Alcohol 3-nitrobenzílico	266

* De M. Karas y U. Bahr, *Trends Anal. Chem.*, **1990**, 9, 322.

espectrómetro de tiempo de vuelo para el análisis de masas⁹. El intervalo de tiempo entre los pulsos del láser es tal que el espectro completo puede ser registrado durante el período que hay entre los pulsos. El espectro de masa que se muestra en la Figura 20-6 se ha obtenido de esta forma. El analito corresponde a un anticuerpo monoclonal de un ratón con una masa molecular de aproximadamente 150.000 daltons. La sustancia matriz es el ácido nicotínico que absorbe fuertemente la emisión del láser a una longitud de onda de 266 nm. El analito

muestra una baja absorbancia a dicha longitud de onda. Obsérvese que el espectro se caracteriza por un ruido de fondo muy bajo y por la ausencia total de fragmentación del ion analito. Obsérvese asimismo que aparecen iones de carga múltiple con cargas +2 y +3, así como picos de especies de dos dímeros y un trímero.

El mecanismo del proceso descrito en el párrafo anterior no es del todo conocido ni tampoco lo son las propiedades que un compuesto requiere para ser una matriz adecuada. Estudios empíricos muestran que el compuesto matriz debe absorber fuertemente la radiación láser y debe ser suficientemente soluble en el disolvente de la muestra como para que haya un gran exceso en la mezcla sólida depositada en la sonda. (El analito no absorbería la radiación láser en cantidad significativa dado que la fragmentación se produciría excluyendo la formación del ion molecular.) Existen sólo ciertos compuestos que son adecuados como matrices para biopolímeros. Algunos de ellos se muestran en la Tabla 20-4.

Ionización por electronebulización¹⁰

La espectrometría de masas con ionización por electronebulización (ESI/MS) descrita por primera vez en 1984 se ha convertido en una de las técnicas más importantes para el análisis de biomoléculas tales como polipéptidos, proteínas y oligonucleótidos con pesos moleculares iguales o superiores a

⁹ Existen disponibles en el mercado instrumentos para MALDI. Véase D. Noble, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 497A.

¹⁰ R. D. Smith, J. A. Loo, C. G. Edmonds, C. J. Baringa, y H. R. Udseth, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 882; J. B. Fenn, M. Mann, C. K. Meng, S. F. Wong, y C. M. Whitehouse, *Science*, **1989**, 246, 64; P. Kebarle y L. Tang, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 972A; S. A. Hofstadler, R. Bakhtiar, y R. D. Smith, *J. Chem. Educ.*, **1996**, 73, A82.

100.000 daltons¹¹. Además este método ha empezado a tener aplicación en la caracterización de especies inorgánicas y polímeros de síntesis¹².

La ionización por electronebulización se realiza en condiciones atmosféricas de presión y temperatura y en un instrumento como el que se muestra en la Figura 20-7. La disolución de la muestra se bombea a través de una aguja capilar de acero inoxidable a un flujo de algunos microlitros por minuto. La aguja se mantiene a un potencial de varios kilovoltios con respecto al electrodo cilíndrico que rodea a dicha aguja. La niebla de finas gotitas cargadas resultante, pasa después a través de un capilar de desolvatación donde se produce la evaporación del disolvente y de las moléculas de analito y donde estas adquieren la carga. Debido a que las gotitas se vuelven más pequeñas como consecuencia de la evaporación del disolvente, su densidad de carga aumenta, produciéndose la desorción de los iones en la atmósfera gaseosa.

El proceso de electronebulización tiene una característica muy interesante y útil, que es la pequeña fragmentación que se produce en biomoléculas grandes y térmicamente frágiles. Además, los iones que se forman son de carga múltiple y los valores de m/z son suficientemente bajos para poder ser detectables con un instrumento de cuadrupolo con un intervalo de 1.500 o menos¹³. Esta propiedad se demuestra en los espectros de masas de cuatro proteínas de distintos pesos moleculares que se muestran en la Figura 20-8. En ellos, los picos adyacentes corresponden a los iones del analito que difieren en una carga. Un hecho notable en los espectros de proteínas como los de la figura, es que la carga promedio se incrementa con el peso molecular de forma casi lineal.

La carga correspondiente a cada pico se puede determinar mediante la distribución de picos, por ello se puede determinar el peso molecular de proteínas a partir de los espectros tales como los que se muestran en la Figura 20-8¹⁴.

Una característica importante de la ionización por electronebulización es que se adaptan fácil-

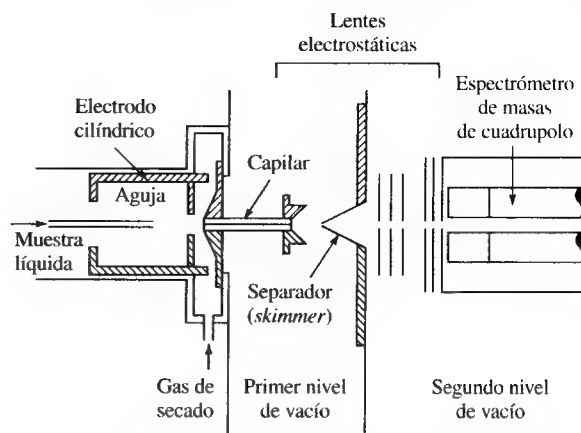


Figura 20-7. Instrumento para ionización por electronebulización. (De J. B. Fenn y col., *Science*, 1989, 246, 65.)

mente a la introducción directa de una muestra desde una columna de cromatografía líquida de alta eficacia o de electroforesis capilar. Estas aplicaciones se estudian en los Capítulos 28 y 30.

Fuentes de bombardeo con átomos rápidos¹⁵

Las fuentes de bombardeo con átomos rápidos (FAB) han adquirido un papel importante en la producción de iones para el estudio de especies polares de elevado peso molecular por espectrometría de masas. Con este tipo de fuentes, las muestras en un estado condensado, a menudo en una matriz de una disolución de glicerol, se ionizan por bombardeo con átomos de xenón o argón de elevada energía (varios keV). Tanto los iones positivos como negativos del analito son expulsados de la superficie de la muestra por un proceso de desorción. Este tratamiento produce un calentamiento muy rápido de la muestra, lo que reduce su fragmentación. La matriz líquida ayuda a reducir la energía de la red la cual debe vencerse para que se desorba un ion de la fase condensada y proporcione una manera de evitar el efecto producido por el bombardeo.

El haz de átomos rápidos se obtienen haciendo pasar iones acelerados de argón o xenón de una fuente o cañón de iones a través de una cámara que contiene átomos de argón o de xenón a una presión de aproximadamente 10^{-5} torr. Los iones a elevada

¹¹ R. Bakhtiar, S. A. Hofstadler y R. D. Smith, *J. Chem. Educ.*, 1996, 73, A118.

¹² C. E. C. A. Hop y R. Bakhtiar, *J. Chem. Educ.*, 1996, 73, A162.

¹³ Para espectrómetros específicamente diseñados para espectrometría de masas con electronebulización, véase L. Vorell, *Anal. Chem.*, 1994, 66, 481A.

¹⁴ Véase H. Drossman y col., *Anal. Chem.*, 1990, 62, 900.

¹⁵ Véase K. L. Rinehart Jr., *Science*, 1982, 218, 254; M. Barber, R. S. Bordoli, G. J. Elliott, R. D. Sedgwick y A. N. Taylor, *Anal. Chem.*, 1982, 54, 645A; K. Biemann, *Anal. Chem.*, 1986, 58, 1288A.

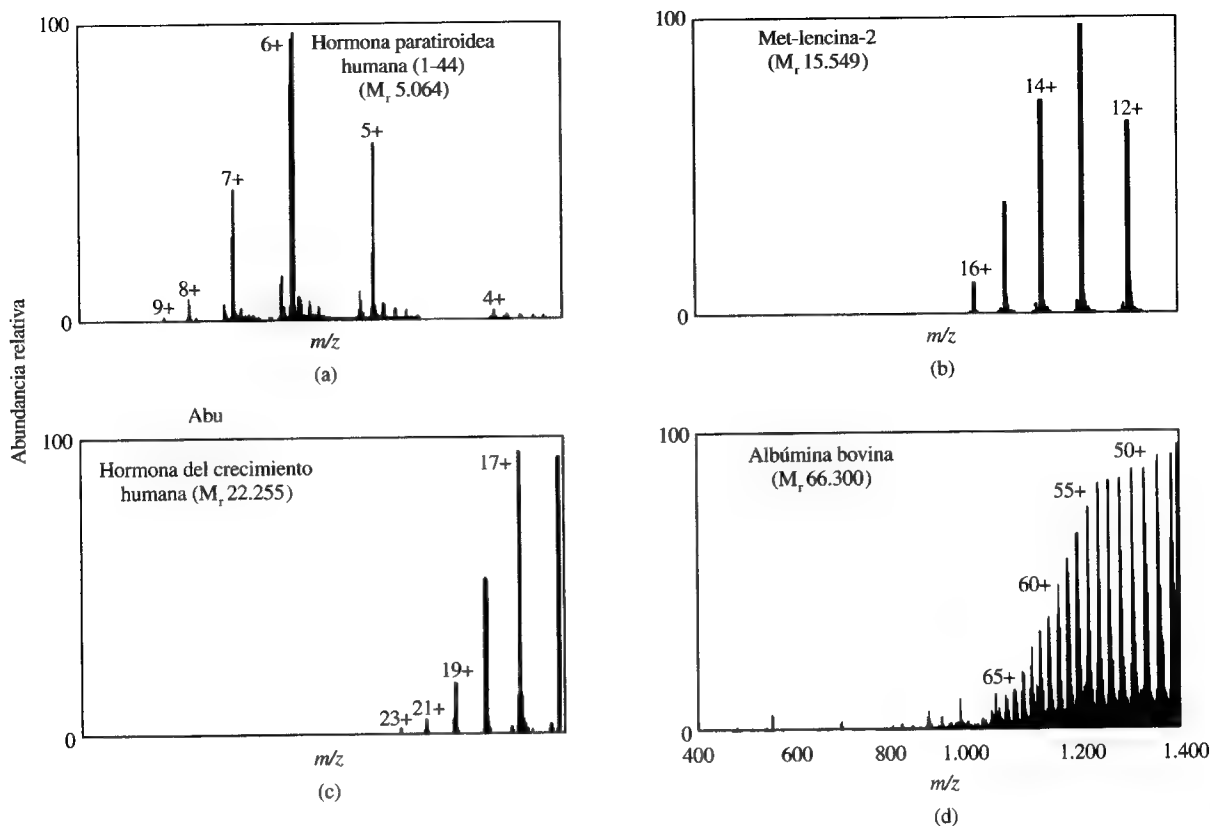


Figura 20-8. Espectros de masas por electronebulización característicos de proteínas y péptidos. Los números situados encima de los picos indican la carga molecular asociada a cada pico. (De R. D. Smith y col. *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 887.)

velocidad experimentan una reacción de intercambio de electrones en resonancia con los átomos, sin que se produzca una pérdida sustancial de energía traslacional, de ese modo, se forma un haz de átomos de alta energía. Los iones de baja energía que resultan en el intercambio se eliminan rápidamente mediante un sistema de desviación electrostática. Las sondas de átomos rápidos están actualmente disponibles en diversas casas comerciales y la mayoría de los espectrómetros antiguos se pueden adaptar para usarlos. Los espectrómetros más recientes disponen de accesorios que permiten este tipo de ionización de la muestra.

El bombardeo de compuestos orgánicos o bioquímicos con átomos rápidos normalmente produce cantidades significativas de iones moleculares (al igual que fragmentos de iones) incluso para muestras de elevado peso molecular y térmicamente inestables. Por ejemplo, con bombardeo con átomos rápidos, se han determinado pesos moleculares

por encima de 10.000 y se ha obtenido información estructural detallada para compuestos con pesos moleculares del orden de 3.000.

Otros métodos de desorción

Un examen de la Tabla 20-1 revela que son posibles otros métodos de desorción. Generalmente éstos producen espectros de naturaleza similar a los métodos de desorción descritos.

20C. LOS ESPECTRÓMETROS DE MASAS

Para realizar las medidas en espectrometría de masas molecular se utilizan diversos tipos de instrumentos. Dos de ellos, el espectrómetro de cuadrupolo y el espectrómetro de tiempo de vuelo han sido descritos con detalle en los Apartados 11B-2

y 11B-3. En este apartado se estudiarán otros tipos de espectrómetros de masas comunes.

20C-1. Descripción general de los componentes del instrumento

El diagrama de bloques de la Figura 20-9 muestra los componentes principales de los espectrómetros de masas. El objetivo del sistema de entrada es introducir una pequeña cantidad de muestra (igual o inferior a un micromol) en el espectrómetro de masas, donde sus componentes se convierten en iones gaseosos. A menudo, el sistema de entrada dispone de un medio para la volatilización de muestras sólidas o líquidas.

Las fuentes de iones de los espectrómetros estudiadas con detalle en el apartado anterior, transforman los componentes de una muestra en iones. En muchos casos el sistema de entrada y la fuente de iones están combinados en un único componente. En todos los casos, se obtiene un haz de iones positivos o negativos (normalmente positivos) que posteriormente se acelera hacia el interior del analizador de masas.

La función del analizador de masas es análoga a la del sistema dispersante en un espectrómetro óptico. En el primero, sin embargo, la dispersión está basada en la relación carga/masa de los iones del analito en vez de en la longitud de onda de los fotones. Los espectrómetros de masas se clasifi-

can en distintas categorías, dependiendo de la naturaleza del analizador de masas.

Al igual que en un espectrómetro óptico, un espectrómetro de masas dispone de un detector (para iones) que convierte el haz de iones en una señal eléctrica que puede ser procesada, almacenada en la memoria de un ordenador y mostrada o registrada de diferentes maneras. Las características de los diversos tipos de detectores empleados en los espectrómetros de masas se estudian en el Apartado 11B-1.

Un hecho característico de los espectrómetros de masas, que no es frecuente en los instrumentos ópticos, es la necesidad de disponer de un sistema de vacío adecuado para mantener bajas presiones (10^{-8} a 10^{-4} torr) en todos los componentes del instrumento a excepción del procesador de señal y del dispositivo de lectura. La necesidad de producir un alto vacío se debe a que las partículas cargadas, incluidos los electrones, interaccionan con los componentes de la atmósfera y como consecuencia son destruidos.

En los apartados siguientes, se describen, primero, los sistemas de entrada más comunes en todos los tipos de espectrómetros de masas. A continuación se define la resolución, la cual determina la capacidad de un espectrómetro para diferenciar entre iones de distintas masas. Finalmente, se describen varios tipos de analizadores de masas que dan lugar a las diferentes categorías de estos instrumentos.

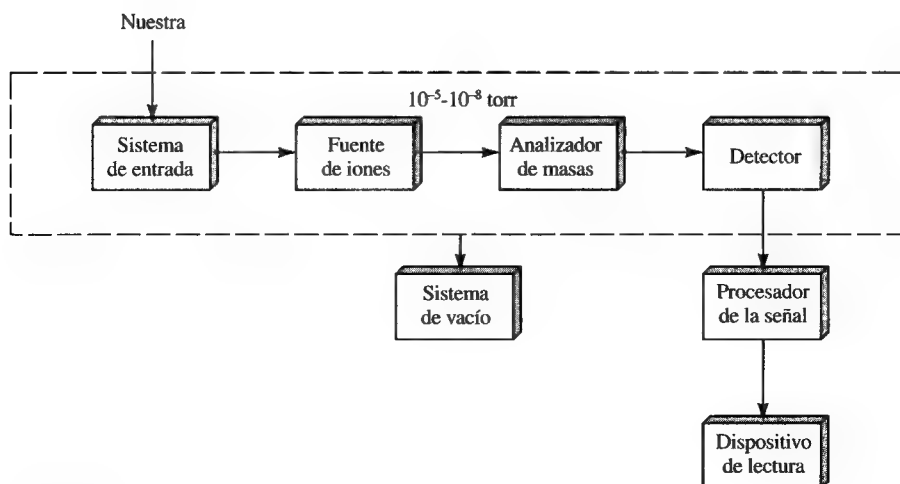


Figura 20-9. Componentes de un espectrómetro de masas.

20C-2. Sistemas de entrada de la muestra

La finalidad del sistema de entrada es permitir la introducción de una muestra representativa en la fuente de iones con la mínima pérdida de vacío. Los espectrómetros de masas más modernos están equipados con diversos tipos de entradas capaces de adaptarse a las distintas muestras, que incluyen sistemas indirectos de entrada, entradas por sonda directa, entradas cromatográficas y entrada de electroforesis capilar.

Sistemas indirectos de entrada

El sistema de entrada clásico (y el más simple) es el indirecto, en el cual la muestra se volatiliza externamente y se introduce en la región de ionización que está a baja presión. La Figura 20-10 muestra el esquema de un sistema típico que es aplicable a muestras gaseosas y líquidas que tengan puntos de ebullición de hasta aproximadamente unos 500 °C. Para muestras gaseosas, un pequeño volumen medido de gas se recoge entre dos válvulas

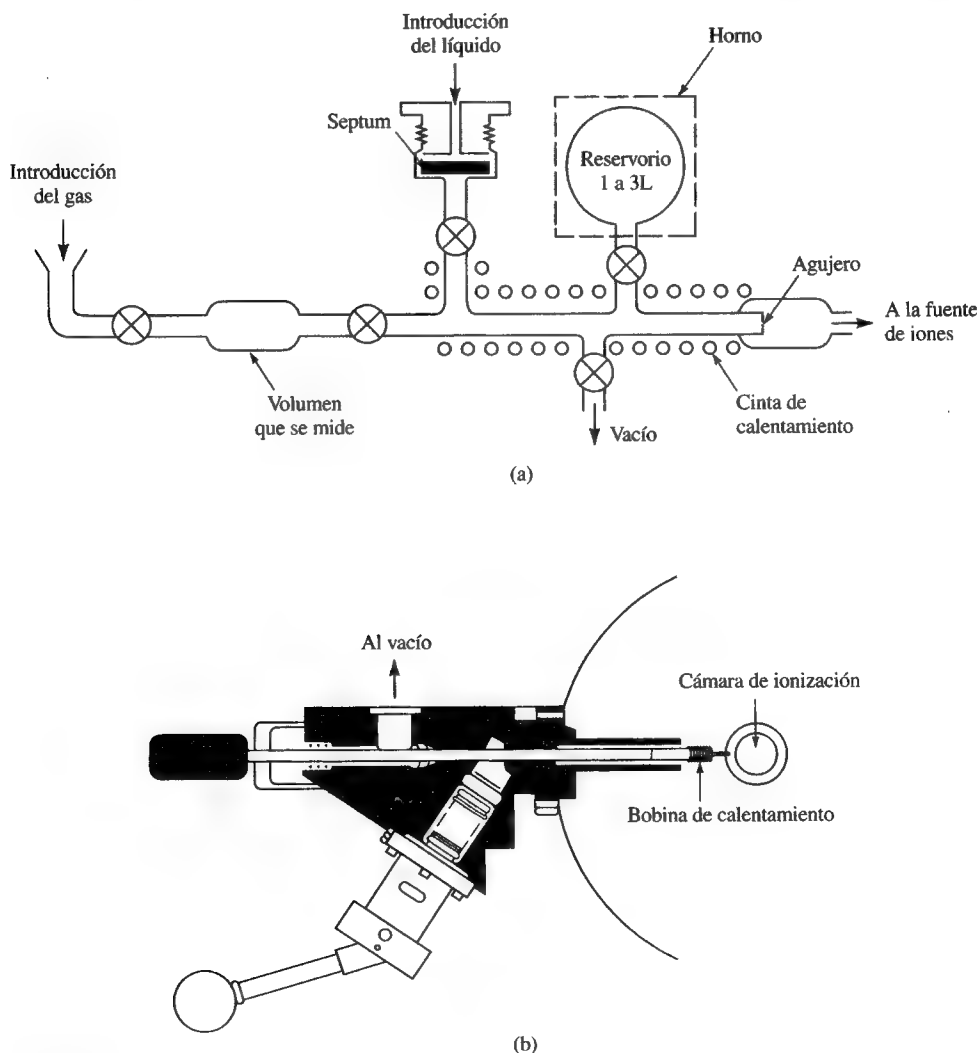


Figura 20-10. Esquema de (a) un sistema de introducción de muestra externa (obsérvese que las diferentes partes no están a escala) y (b) sonda para introducir la muestra directamente en la fuente de iones. (De G. A. Eadon, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.^a ed., J. D. Winefordner, M. M. Bursey e I. M. Kolthoff, Eds., Parte I, Vol. 11, pág. 9. New York: Wiley, 1989. Reproducido con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

colocadas en el área de medida que después se expande en un recipiente contenedor. Para los líquidos se introduce en un depósito una cantidad pequeña de la muestra, normalmente con una microjeringa. En ambos casos, el sistema de vacío se usa para alcanzar una presión en la muestra de 10^{-5} a 10^{-4} torr. Para las muestras que tienen puntos de ebullición superiores a 150°C , el depósito y el tubo se deben mantener a temperatura elevada mediante un horno y unas cintas calefactoras. La temperatura máxima del horno es de 350°C . Este máximo limita el sistema a líquidos con puntos de ebullición por debajo de 500°C . La muestra, una vez en fase gaseosa, se introduce en el área de ionización del espectrómetro a través de un diafragma de metal o de vidrio que contiene uno o varios orificios pequeños. El sistema de entrada es, normalmente, de vidrio para evitar pérdidas de analitos polares por adsorción.

Entrada por sonda directa

Los líquidos y sólidos no volátiles se pueden introducir en la región de ionización mediante un soporte para muestra o sonda, el cual se inserta a través de un cierre de vacío (véase Fig. 20-10b). El sistema de cierre está diseñado para limitar el volumen de aire que debe entrar desde el sistema después de la inserción de la sonda en la región de ionización. Las sondas se utilizan también cuando la cantidad de muestra es limitada, debido a que se pierde mucha menos muestra que con el sistema de entrada indirecto. Por tanto, los espectros de masas se pueden obtener, a menudo, con solo algunos nanogramos de muestra.

En una sonda, la muestra se pone generalmente en la superficie de un vidrio o en un tubo capilar de aluminio, un alambre fino o una copa pequeña. La sonda se coloca a unos pocos milímetros de la fuente de ionización y de la rendija que conduce al espectrómetro. Normalmente, el suministro de la muestra se hace tanto calentándola como enfriándola en la sonda.

La baja presión en el área de ionización y la proximidad de la muestra a la fuente de ionización, a menudo, hace posible la obtención de espectros de compuestos térmicamente inestables antes de que se descompongan. La baja presión proporciona también una concentración elevada de compuestos poco volátiles en el área de ionización. De este modo, la sonda permite el estudio de materiales no volátiles tales como carbohidratos, esteroides, es-

pecies organometálicas y sustancias poliméricas de bajo peso molecular. El requisito principal de la muestra es que alcance una presión parcial de al menos 10^{-8} torr antes de que empiece a descomponerse.

Sistemas de entrada cromatográficos y de electroforesis capilar

Los espectrómetros de masas, a menudo, están acoplados a sistemas de cromatografía de gases o de líquidos de alta eficacia o a columnas de electroforesis capilar que permiten la separación y determinación de los componentes de mezclas complejas. El acoplamiento de una columna cromatográfica o de electroforesis capilar a un espectrómetro de masas requiere la utilización de sistemas de entrada especiales, algunos de los cuales se describen en los Apartados 27D-3, 28C-6 y 30B-4.

20C-3. Analizadores de masas

Para la separación de iones con diferente relación masa/carga se dispone de varios dispositivos. Lo ideal es que el analizador fuera capaz de distinguir entre diferencias muy pequeñas de masa. Además, los analizadores deberían permitir el paso del número de iones suficiente para producir corrientes iónicas fáciles de medir. Al igual que sucede en los monocromadores ópticos, a los que los analizadores son análogos, estas dos propiedades no son totalmente compatibles y siempre se debe llegar a un compromiso en el diseño.

Resolución de los espectrómetros de masas

La capacidad de un espectrómetro de masas de distinguir entre masas se expresa normalmente en términos de su *resolución* R , que se define como

$$R = m/\Delta m \quad (20-3)$$

donde Δm es la diferencia de masa entre dos picos adyacentes que están resueltos y m es la masa nominal del primer pico (a veces se utiliza en su lugar la masa media de los dos picos). Se considera que dos picos están separados si la altura del valle entre ellos no es mayor de una determinada fracción de su altura (a menudo un 10 por 100). Así, un espectrómetro con una resolución de 4.000 podrá resolver picos que aparezcan a valores de m/z de 400,0 y 400,1 (o 40,00 y 40,01).

La resolución que se necesita en un espectrómetro de masas depende en gran medida de su aplicación. Por ejemplo, para diferenciar entre iones de la misma masa nominal tales como $C_2H_4^+$, CH_2N^+ , N_3^+ y CO^+ (todos ellos con 28 daltons de masa nominal pero con masas exactas de 28,0313, 28,0187, 28,0061 y 27,9949 daltons, respectivamente) se necesita un instrumento con una resolución de varios miles. Por otro lado, los iones de bajo peso molecular que difieren en una unidad de masa o más, por ejemplo, NH_3^+ ($m = 17$) y CH_4^+ ($m = 16$) pueden distinguirse con un instrumento que tenga una resolución inferior a 50. Los espectrómetros comerciales disponibles tienen resoluciones que van desde aproximadamente 500 a 500.000.

EJEMPLO 20-3

¿Qué resolución se requiere para separar los dos primeros iones mencionados en el ejemplo del párrafo anterior? Aquí,

$$\Delta m = 28,0313 - 28,0187 = 0,0126$$

Sustituyendo en la Ecuación 20-3 se obtiene

$$R = m/\Delta m = 28,025/0,0126 = 2,22 \times 10^3$$

donde 28,025 es la media de las masas de las dos especies.

Analizadores de sector magnético

Los analizadores de sector magnético utilizan un imán permanente o un electroimán para hacer que el haz procedente de la fuente de iones se desplace con una trayectoria circular de 180, 90 o 60 grados. La Figura 20-11 muestra un instrumento de sector de 90 grados en el que los iones, formados por impacto de electrones, son acelerados a través de la rendija B hacia el tubo analizador metálico, que se mantiene a una presión interna de alrededor de 10^{-7} torr. Se puede llevar a cabo un barrido de los iones de diferente masa a través de la rendija de salida variando la fuerza del campo del imán o el potencial de aceleración entre las rendijas A y B . Los iones que pasan a través de la rendija de salida se recogen en un electrodo colector y dan lugar a una corriente de iones que es amplificada y registrada.

La energía traslacional, o cinética, EC de un ion de masa m y carga z en la rendija de salida B viene dada por

$$EC = zeV = \frac{1}{2} mv^2 \quad (20-4)$$

donde V es el potencial entre A y B , v es la velocidad del ion después de la aceleración y e es la carga del ion ($e = 1,60 \times 10^{-19}$ C). Hay que destacar que todos los iones que tienen la misma carga z se supone que tienen la misma energía cinética después de la aceleración, independientemente de su masa. Esta suposición sólo es cierta de modo aproximado, debido a que los iones, antes de ser acelerados poseen una distribución estadística de velocidades (rapidez y dirección), que se reflejará en una distribución similar para los iones acelerados. Las limitaciones, de esta suposición se discuten en el apartado siguiente en el que se tratan los instrumentos de doble enfoque. Debido a que todos los iones que abandonan la rendija tienen aproximadamente la misma energía cinética, los iones más pesados se desplazan a través del sector magnético a velocidades menores.

La trayectoria descrita en el sector por los iones de una masa y carga dadas representa la resultante entre las dos fuerzas que actúan sobre ellos. La fuerza magnética F_M viene dada por la relación

$$F_M = Bzev \quad (20-5)$$

donde B es la fuerza del campo magnético. La fuerza centrípeta resultante F_c viene dada por

$$F_c = \frac{mv^2}{r} \quad (20-6)$$

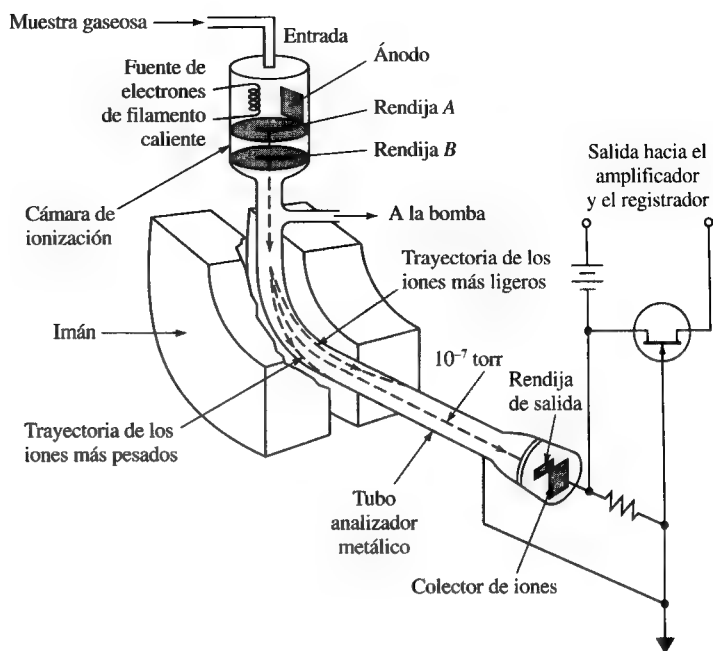
donde r es el radio de curvatura del sector magnético. Para que un ion atravesase la trayectoria circular hasta el colector, es necesario que F_M y F_c sean iguales. Así, de las Ecuaciones 20-5 y 20-6 resulta

$$Bzev = \frac{mv^2}{r} \quad (20-7)$$

y reordenando

$$v = \frac{Bze r}{m} \quad (20-8)$$

Figura 20-11. Esquema de un espectrómetro de sector magnético.



Sustituyendo la Ecuación 20-8 en la Ecuación 20-4 da, después de reordenar

$$\frac{m}{z} = \frac{B^2 r^2 e}{2V} \quad (20-9)$$

La Ecuación 20-9 revela que los espectros de masas se pueden obtener variando una de las tres variables (B , V o r) y manteniendo constantes las otras dos. Los espectrómetros de masas de sector más modernos disponen de un electroimán en el que los iones se separan manteniendo V y r constantes mientras se varía la corriente en el imán y por tanto B . En los espectrómetros de sector que utilizan un registrador fotográfico, B y V son constantes y r es variable (véase Fig. 11-9).

EJEMPLO 20-4

¿Qué potencial de aceleración se necesita para dirigir una molécula de agua con una carga a través de la rendija de salida de un espectrómetro de masas magnético si el imán tiene una fuerza de campo de 0,240 T (teslas) y el radio de curvatura del ion a través del campo magnético es de 12,7 cm?

Primero, se han de transformar todas las variables experimentales a unidades del SI. Así,

$$\text{carga por ion } ez = 1,60 \times 10^{-19} \text{ C} \times 1$$

$$\text{radio } r = 0,127 \text{ m}$$

$$\begin{aligned} \text{masa } m &= \frac{18,02 \text{ g H}_2\text{O}^+/\text{mol}}{6,02 \times 10^{23} \text{ H}_2\text{O}^+/\text{mol}} \times 10^{-3} \frac{\text{kg}}{\text{g}} \\ &= 2,99 \times 10^{-26} \text{ kg H}_2\text{O}^+ \end{aligned}$$

$$\text{campo mgnético } B = 0,240 \text{ T} = 0,240 \text{ W/m}^2$$

Se sustituye entonces en la Ecuación 20-9 y se resuelve para el potencial de aceleración V :

$$\begin{aligned} V &= \frac{B^2 r^2 ez}{2m} \\ &= \frac{[0,240 \text{ W/m}^2]^2 [0,127 \text{ m}]^2 [1,60 \times 10^{-19} \text{ C}]}{2 \times 2,99 \times 10^{-26} \text{ kg}} \\ &= 2,49 \times 10^3 \frac{\text{W}^2\text{C}}{\text{m}^2 \text{ kg}} = 2,49 \times 10^3 \text{ V} \end{aligned}$$

No es obvio que $\text{W}^2\text{C}/(\text{m}^2 \text{ kg})$ sea equivalente a voltios, pero lo es.

Espectrómetros de doble enfoque

Los instrumentos de sector magnético estudiados en el apartado anterior se denominan, a menudo, espectrómetros de *enfoque simple*. Esta terminología se utiliza porque un conjunto de iones que salen de la fuente con la misma relación masa/carga pero con una distribución direccional algo divergente, estarán afectados por el campo magnético de tal manera que se produce una distribución direccional convergente cuando los iones abandonan el campo. La capacidad de un campo magnético para conducir iones con orientaciones direccionales diferentes hacia el foco significa que la distribución de energías traslacionales de los iones que dejan la fuente es el factor responsable que limita en mayor medida la resolución de los instrumentos de sector magnético ($R \leq 2.000$).

La distribución de energía traslacional de los iones que abandonan la fuente surge de la distribución de Boltzmann de energías de las moléculas a partir de las cuales se forman los iones y de la no homogeneidad del campo de la fuente. La difusión de energías cinéticas produce un ensanchamiento del haz que llega al detector y por tanto una pérdida de resolución. Con objeto de medir las masas atómicas y moleculares con una precisión de algunas partes por millón, es necesario diseñar instrumentos que corrijan, tanto las distribuciones direccionales como las de energía de los iones que dejan la

fente. El término *doble enfoque* se aplica a los espectrómetros de masas en los cuales las aberraciones direccionales y las aberraciones de energía de una población de iones se minimizan simultáneamente. El doble enfoque se consigue utilizando combinaciones de campos magnéticos y electrostáticos cuidadosamente seleccionados. En el instrumento de doble enfoque, que se muestra esquemáticamente en la Figura 20-12, el haz de iones pasa en primer lugar a través de un analizador electrostático (ESA) que consiste en dos placas metálicas lisas curvadas, a través de las que se aplica un potencial de corriente continua. Este potencial tiene el efecto de limitar la energía cinética de los iones que llegan al sector magnético a un intervalo definido exactamente. Los iones con energías mayores que las promedio, chocan con la parte superior de la rendija ESA y se pierden yendo hacia tierra. Los iones que tienen energías que son inferiores a las promedio chocan con el lado inferior de la rendija ESA y son eliminados.

El enfoque direccional en el sector magnético tiene lugar a lo largo del plano focal indicado como *d* en la Figura 20-12; el enfoque de energía se produce a lo largo del plano denominado *e*. Así, sólo los iones con una determinada m/z son doblemente enfocados en la intersección de *d* y *e* para un potencial de aceleración y una fuerza de campo magnético dados. Por tanto, la rendija del colector se coloca en este punto de doble enfoque.

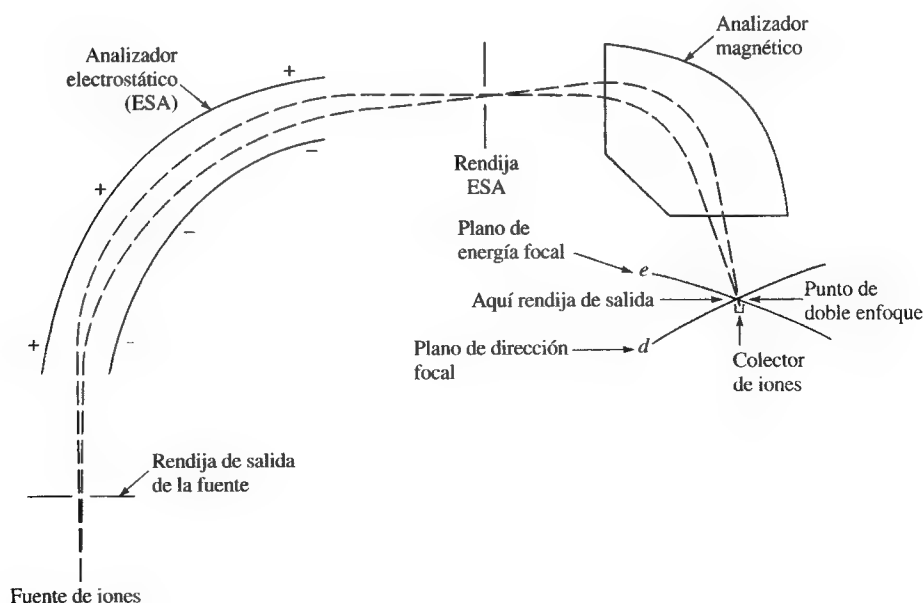
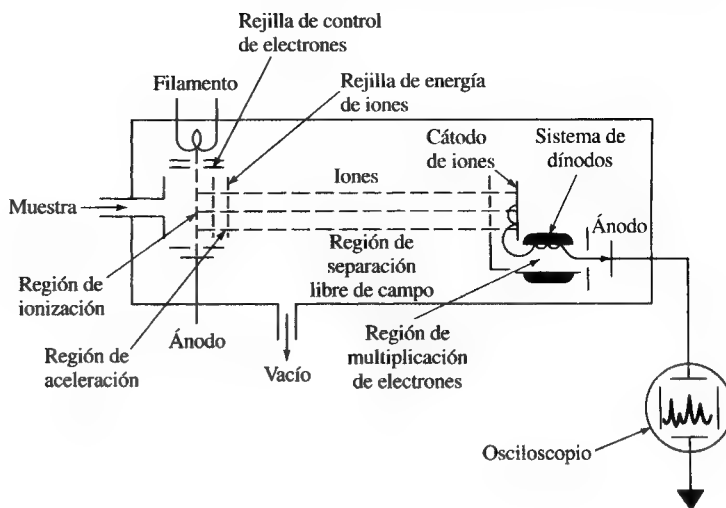


Figura 20-12. Diseño de Nier-Johnson de un espectrómetro de masas de doble enfoque.

Figura 20-13. Esquema de un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo.



Una amplia variedad de espectrómetros de doble enfoque se encuentra disponible en el mercado. Los más sofisticados son capaces de alcanzar una resolución del orden de 10^5 . También se pueden adquirir instrumentos de doble enfoque más compactos (y más baratos). Un instrumento característico de este tipo tiene un sector electrostático de unos 15 cm y un deflector magnético de 10 cm y 90 grados. En estos instrumentos son usuales resoluciones de 2.500. A menudo, se utilizan como detectores para columnas cromatográficas.

El espectrómetro que se muestra en la Figura 20-12 corresponde al diseño llamado de *Nier-Johnson*. Otro diseño de doble enfoque, que utiliza una geometría *Mattauch-Herzog*, se muestra en la Figura 11-9. La disposición de este tipo de instrumentos es la única en la que los planos de energía y dirección focal coinciden; por esta razón, el diseño *Mattauch-Herzog* utiliza a menudo una placa fotográfica para registrar el espectro. La placa fotográfica se sitúa a lo largo del plano focal, donde se enfocan todos los iones, independientemente de cual sea su relación masa/carga.

Espectrómetro de masas cuadrupolar

Los espectrómetros de masas cuadrupolares son normalmente, menos caros y más robustos que los de sector magnético. Son, generalmente, más compactos que los instrumentos de sector magnético y son los espectrómetros de masas que más se comercializan. También ofrecen la ventaja de emplear tiempos de barrido pequeños (esto es,

<100 ms), lo cual es particularmente útil para realizar barridos de picos cromatográficos en tiempo real. Los analizadores cuadrupolares son, con diferencia, los más utilizados hoy en día. En el Apartado 11B-2 se puede encontrar un estudio detallado de estos instrumentos.

Analizadores de masas de tiempo de vuelo

Como se ve en el Apartado 11B-3, en los instrumentos de tiempo de vuelo (TOF), los iones positivos se producen periódicamente por bombardeo de la muestra con impulsos de electrones, de iones secundarios o de fotones generados por láser. Los iones producidos de esta forma son acelerados en un tubo analizador libre de campo mediante un campo eléctrico pulsante de 10^3 a 10^4 V (véase Figura 20-13). La separación de los iones en función de la masa se produce durante su recorrido hasta el detector, situado al final del tubo. Dado que todos los iones que entran en el tubo tienen la misma energía cinética, sus velocidades en él variarán inversamente a sus masas (Ecuación 20-4), y por tanto las partículas más ligeras llegarán antes al detector que las pesadas. Los tiempos de vuelo característicos están entre 1 y $30 \mu\text{s}$.

Los instrumentos de tiempo de vuelo ofrecen algunas ventajas sobre otros tipos de espectrómetros tales como la simplicidad y la robustez, el fácil acceso a la fuente de iones y el virtualmente ilimitado intervalo de masas. Tienen, no obstante, una resolución y una sensibilidad limitadas. Varios fabricantes de instrumentos ofrecen actualmente ins-

trumentos de tiempo de vuelo, pero son menos utilizados que los espectrómetros de masas de sector magnético y cuadrupolares.

Analizadores de trampa de iones

Una trampa de iones es un dispositivo en el que los cationes o aniones gaseosos pueden formarse y quedar confinados durante largos períodos de tiempo por la acción de campos eléctricos y/o magnéticos. Se han desarrollado varios tipos de trampas de iones¹⁶ y son dos las que normalmente se utilizan en los espectrómetros de masas comerciales. Una de ellas es la trampa de resonancia iónica ciclotrónica que se comentará en el Apartado 20-4. En él, se describe un tipo sencillo de trampa de iones que se desarrolló, primero como detector para cromatografía de gases (CG/MS) pero ahora se utiliza para obtener espectros de masas de diversos analitos.

La Figura 20-14 muestra la sección transversal de una trampa de iones sencilla y disponible en el comercio¹⁷. Consta de un electrodo anular y un par de electrodos colectores. Al electrodo anular se le aplica un potencial de radiofrecuencia variable mientras que los dos electrodos colectores están conectados a tierra. Los iones con un valor de m/z adecuado circulan en una órbita estable dentro de la cavidad que está rodeada por el anillo. Cuando se incrementa el potencial de radiofrecuencia, las órbitas de los iones más pesados llegan a estabilizarse, mientras que las de los iones más ligeros se desestabilizan, produciéndose su colisión con la pared del electrodo anular.

Cuando este dispositivo funciona como un espectrómetro de masas, una ráfaga de iones del analito procedente de una fuente de impacto de electrones o de ionización química penetra a través de una rejilla en el electrodo colector superior. Se realiza entonces un barrido del potencial de radiofrecuencia y los iones son atrapados; cuando se desestabilizan, abandonan la cavidad del electrodo anular a través de una abertura en el electrodo colector inferior. Los iones emitidos pasan seguidamente al detector.

¹⁶ Para una discusión de los diversos tipos de trampas de iones, véase J. Allison y R. M. Stepnowski, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 1072A; R. G. Cooks, S. A. McLuckey y R. E. Kaiser, *Chem. & Eng. News*, **1991**, 25 de marzo; S. A. McLuckey, G. J. Van Berkel, D. E. Goeringer, A. L. Gish, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 689A, 737A.

¹⁷ Para una descripción detallada de este diseño, véase G. C. Stafford, P. E. Kelly, J. E. P. Syka, W. E. Reynolds y J. F. J. Todd, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc.*, **1984**, 60, 85.

Los espectrómetros de trampa de iones son robustos, compactos y más económicos que los instrumentos de sector o cuadrupolar. Una versión comercial corriente de este dispositivo, que se ilustra en la Figura 27-14, es capaz de resolver iones que difieren en una unidad de masa en el intervalo de masas de 500 a 1.000 Daltons.

20C-4. Instrumentos de transformada de Fourier (FT)¹⁸

Como sucede con los instrumentos de infrarrojo y de resonancia magnética nuclear, los espectrómetros de masas de transformada de Fourier proporcionan mejores relaciones señal/ruido, velocidades mayores y sensibilidad y resolución más elevadas. Los espectrómetros de masas de transformada de Fourier comerciales aparecieron en el mercado a principios de los años ochenta y actualmente los ofrecen diversos fabricantes.

La parte esencial de un instrumento de transformada de Fourier es una *trampa de iones* en la cual los iones circulan en órbitas bien definidas durante largos períodos. Tales cavidades se construyen aprovechando el *fenómeno de resonancia iónica ciclotrónica*.

Fenómeno de resonancia iónica ciclotrónica (ICR)¹⁹

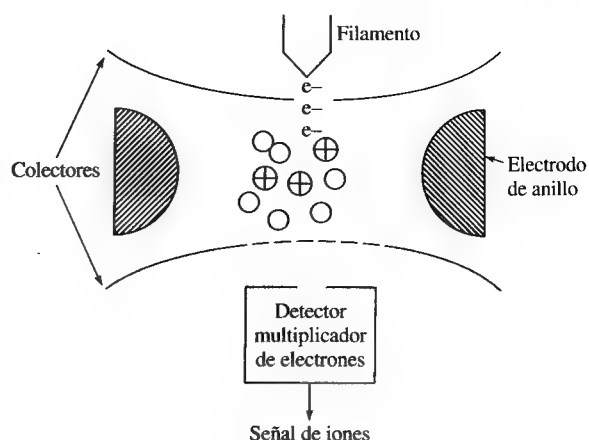
Cuando un ion gaseoso es arrastrado o se forma en un campo magnético elevado, su movimiento llega a ser circular en un plano que es perpendicular a la dirección del campo. La frecuencia angular de este movimiento se llama *frecuencia ciclotrónica*, ω_c . Si se reordena la Ecuación 20-8 y se introduce v/r , que es la frecuencia ciclotrónica en radianes por segundo, se obtiene

$$\omega_c = \frac{v}{r} = \frac{zeB}{m} \quad (20-10)$$

¹⁸ Para más detalles de la espectrometría de masas de transformada de Fourier, véase M. L. Gross y D. L. Rempel, *Science*, **1984**, 226, 261; A. G. Marshall y P. B. Grosshans, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 215A; M. Johnson, *Spectroscopy*, **1987**, 2(2), 14 y **1987**, 2(3), 14; C. D. Hanson, E. L. Kerley y D. H. Russell, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.^a ed., J. D. Winefordner, M. M. Bursey e I. M. Kolthoff, Eds., Parte I, Vol. 11, Capítulo 2. New York: Wiley, 1989.

¹⁹ Para una discusión detallada, véase T. A. Lehman y M. M. Bursey, *Ion Cyclotron Resonance Spectroscopy*. New York: Wiley, 1976, M. L. Gross y C. L. Wilkins, *Anal. Chem.*, **1981**, 43, 65A.

Figura 20-14. Espectrómetro de masas de trampa de iones.



Obsérvese que en un campo determinado, la frecuencia ciclotrónica depende sólo de la inversa del valor m/z . Los aumentos en la velocidad de un ion irán acompañados por el correspondiente aumento en el radio de giro del ion.

Un ión atrapado en una trayectoria circular en un campo magnético es capaz de absorber energía de un campo eléctrico de corriente alterna, siempre que la frecuencia del campo sea igual a la frecuencia ciclotrónica. La energía absorbida aumenta en ese caso la velocidad del ion (y por tanto su radio de giro) sin alterar ω_c . Este efecto se ilustra en la Figura 20-15. Aquí, la trayectoria original de un ion atrapado en un campo magnético está representada por el círculo de trazo continuo más interno. La aplicación de un potencial de corriente alterna crea un campo fluctuante entre las placas que interacciona con el ion, siempre que la frecuencia de la fuente esté próxima a la frecuencia ciclotrónica. En estas condiciones, las velocidades de los iones aumentan continuamente, al igual que los radios de sus trayectorias (véase la línea punteada). Cuando la señal eléctrica de corriente alterna acaba, el radio de la trayectoria del ion vuelve a ser constante, tal como lo sugiere el círculo de trazo continuo más externo en la figura.

Cuando en la zona situada entre las placas de la Figura 20-15 aparece un grupo de iones con la misma relación masa/carga, la aplicación de la señal de corriente alterna que tiene la frecuencia de resonancia ciclotrónica permite agrupar todas las partículas en un movimiento coherente que está en fase con el campo. Los iones con frecuencia ciclotrónica diferente, esto es, aquellos con relaciones masa/carga diferentes no están afectados por el campo de corriente alterna.

Medida de la señal ICR

El movimiento circular coherente de los iones resonantes crea la denominada *corriente imagen* que puede ser fácilmente observada al finalizar la señal del barrido de frecuencias.

Así, si el interruptor de la Figura 20-15 se desconecta de la posición 1 y se conecta a la 2, se observa una corriente que disminuye exponencialmente con el tiempo. Esta corriente imagen es una corriente capacitiva inducida por el movimiento circular de un grupo de iones que tienen la misma relación masa/carga. Por ejemplo, cuando un grupo de iones positivos se aproxima a la placa superior de la Figura 20-16, los electrones son atraídos des-

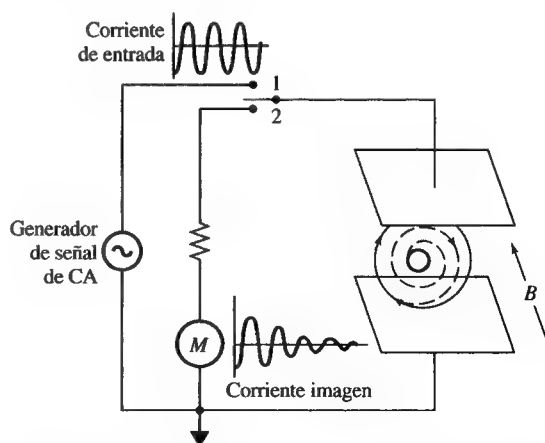


Figura 20-15. Trayectoria de un ion en un campo magnético intenso. La línea continua del interior representa la trayectoria circular original del ion. La línea punteada muestra la trayectoria en espiral cuando el interruptor se conecta brevemente en la posición 1. La línea continua del exterior es la nueva trayectoria circular cuando se abre otra vez el interruptor.

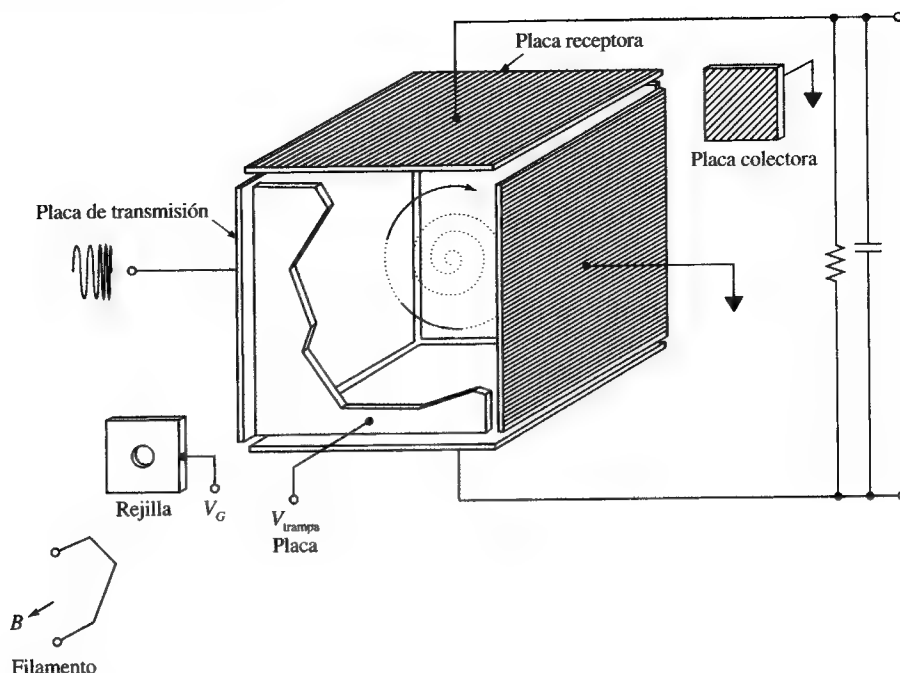


Figura 20-16. Celda de un analizador de trampa de iones.

de tierra hasta esta placa, dando lugar a una corriente momentánea. Cuando el grupo continúa hacia la otra placa, la dirección del flujo externo de electrones se invierte. La magnitud de la corriente alterna resultante depende del número de iones del grupo. La frecuencia de la corriente es característica del valor masa/carga de los iones en el grupo. Esta corriente se utiliza en los espectrómetros iónicos ciclotrónicos para medir la concentración de iones que han entrado en resonancia a diferentes señales de frecuencia aplicadas.

Esta corriente imagen inducida se amortigua en unas pocas décimas de segundo o como máximo, en varios segundos debido a que se pierde el carácter coherente del grupo de iones que circula. Las colisiones entre los iones son la causa por la cual los iones que circulan de manera coherente pierden energía y vuelven a la condición de equilibrio térmico. Esta disminución de la corriente imagen proporciona una señal en el dominio del tiempo que es similar a la señal FID que se obtiene en los experimentos FT-RMN (véase Apartado 19A-3).

Espectrómetros de transformada de Fourier

Los espectrómetros de masas de transformada de Fourier están generalmente equipados con una cel-

da de un analizador de trampa de iones tal como la que se muestra en la Figura 20-16. Las moléculas gaseosas de la muestra se ionizan en el centro de la celda por electrones que son acelerados desde el filamento a través de la celda a una placa colectora. Se aplica un potencial pulsante a la rejilla que sirve de entrada para abrir y cerrar periódicamente el paso del haz de electrones. Los iones se mantienen en la celda aplicando un potencial de 1 a 5 V a la placa trampa. Son acelerados por una señal de radiofrecuencia aplicada a la placa de transmisión tal como se muestra en la figura. La placa receptora se conecta a un amplificador que amplifica la corriente imagen. Este montaje para confinar iones es muy eficaz y se pueden obtener tiempos de almacenamiento de varios minutos. Las dimensiones de la celda no son críticas pero normalmente tienen algunos centímetros de lado.

El fundamento de las medidas de transformada de Fourier se ilustra en la Figura 20-17. Primero se generan los iones mediante un breve impulso de un haz de electrones (no se muestra) y son almacenados en la celda de la trampa de iones. Después de un cierto tiempo, los iones atrapados se someten a un impulso de radiofrecuencia que aumenta linealmente en frecuencia durante su tiempo de vida. (La Figura 20-17a muestra un impulso de 5 ms, durante

dicho tiempo la frecuencia aumenta linealmente de 0,070 a 3,6 MHz.) Una vez finalizado el barrido de frecuencia, la corriente imagen, inducida por los diferentes grupos de iones, se amplifica, digitaliza y almacena en la memoria. El descenso de la señal amortiguada en el dominio del tiempo, que se muestra en la Figura 20-17b, se transforma seguidamente para dar una señal en el dominio de la frecuencia que a su vez puede ser convertida en una señal que depende de la masa aplicando la Ecuación 20-10. La Figura 20-18 ilustra la relación entre el espectro en el dominio del tiempo, su equivalente en el dominio de la frecuencia y el espectro de masas resultante. Los espectrómetros de transformada de Fourier son instrumentos caros (>400.000 dólares). Un modelo comercial utiliza un imán superconductor en un campo nominal de 1,9 teslas. La resolución en espectrometría de masas de transformada de Fourier está limitada por la precisión en la medida de la frecuencia más que por las rendijas o por las medidas de campo. Es posible alcanzar una resolución extremadamente elevada (superior a 10^6), dado que las medidas de frecuencia se pueden hacer con elevada precisión.

20C-5. Espectrómetros de masas computarizados

Los miniordenadores y los microprocesadores son una parte fundamental de los espectrómetros de masas modernos²⁰. Una característica de los espectros de masas es la abundancia de datos estructurales que suministran. Por ejemplo, un haz de electrones puede fragmentar una molécula con un peso molecular de 500 en 100 o más iones diferentes, cada uno de los cuales da un pico espectral discreto. Para realizar una determinación estructural, se deben determinar, almacenar y finalmente mostrar la altura y la relación masa/carga de cada pico. Dado que la cantidad de información es muy grande, es esencial que la adquisición de datos y su procesamiento sea rápido; el ordenador se ajusta perfectamente a esta función. Por otra parte, para que los datos espectrales sean útiles, se deben controlar estrictamente diversas variables instrumentales durante la recogida de datos. Para

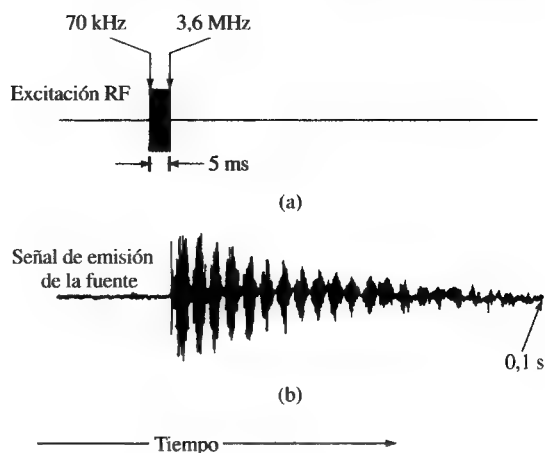


Figura 20-17. Esquema que muestra la duración de (a) una señal de radiofrecuencia y (b) la señal de la imagen transitoria (abajo). (Reproducido con autorización de R. T. McIver Jr., Amer. Lab., 1980, 12(11), 26. Copyright 1980 por International Scientific Communications, Inc.)

efectuar las tareas de control, son mucho más eficaces los ordenadores y los microprocesadores que un operador.

La Figura 20-19 corresponde a un diagrama de bloques de un sistema de control computarizado y de adquisición de datos de un espectrómetro de masas cuadrupolar. Esta figura muestra dos características que debe poseer cualquier instrumento moderno. La primera es un ordenador que sirva para el control general del instrumento. El operador se comunica mediante un teclado con el espectrómetro, seleccionando los parámetros y las condiciones operativas mediante un «software» interactivo fácil de utilizar. El ordenador también controla los programas responsables de la obtención, manipulación y salida de los resultados. La segunda característica común a casi todos los instrumentos es un conjunto de microprocesadores (a menudo unos seis) que son los responsables de aspectos concretos del control del instrumento y/o de la transmisión de información entre el ordenador y el espectrómetro.

La interfase entre el espectrómetro de masas y el ordenador normalmente tiene capacidad para digitalizar la señal de la corriente de iones amplificada y otras señales que se utilizan para el control de las variables instrumentales. Ejemplos de estas últimas son la temperatura de la fuente, el potencial de aceleración, la velocidad de barrido y la fuerza del campo magnético o los potenciales del cuadrupolo.

²⁰ Para una discusión detallada de la espectrometría de masas computarizada, véase J. R. Chapman, *Computers in Mass Spectrometry*. New York: Academic Press, 1978.

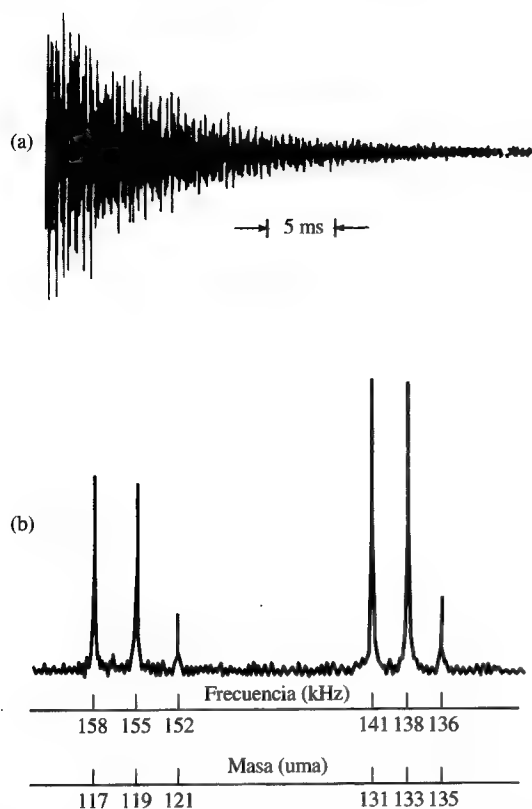


Figura 20-18. Espectros en el dominio del tiempo (a) y (b) en el de la frecuencia o en el de la masa para el 1,1,1,2-tetracloroetano. (Reproducido con autorización de E. B. Ledford Jr., y col., *Anal Chem.*, 1980, 52, 466. Copyright 1980 por American Chemical Society.)

La señal de la corriente de iones digitalizada suele requerir un procesamiento considerable antes de estar lista para su visualización. Primero, los picos deben ser normalizados, un proceso por el cual se calcula la altura de cada pico respecto a algún pico de referencia. A menudo, el *pico base*, que es el pico más grande del espectro, sirve como referencia y se le asigna arbitrariamente una altura de 100 (o a veces 1.000). Se debe también determinar el valor de m/z para cada pico. Este valor se relaciona normalmente con el tiempo al que aparecen los picos y con la velocidad de barrido. Generalmente los resultados se obtienen como intensidad en función del tiempo durante un barrido del campo magnético y/o eléctrico estrictamente controlados. La conversión del tiempo a m/z requiere una cuidadosa calibración periódica; con este objetivo, se utiliza a menudo como patrón perfluorotri-*n*-butilamina (PFTBA) o perfluoro-queroseno. En trabajos de alta resolución, los patrones pueden introducirse

con la muestra. En este caso el ordenador se programa para reconocer y utilizar los picos del patrón como referencias para la asignación de masas. En instrumentos de baja resolución, la calibración debe hacerse por lo general independientemente de la muestra, debido a la probabilidad de que se solapen picos.

En la mayoría de los sistemas, los ordenadores almacenan en un disco todos los espectros y toda la información relacionada. En aplicaciones de rutina, los gráficos de líneas correspondientes a los espectros normalizados pueden enviarse directamente a una impresora o a un registrador gráfico. Sin embargo, en muchos casos, el usuario utiliza un «software» de reducción de datos para extraer la información específica importante que le permita obtener una copia impresa del espectro. La Figura 20-20 muestra un ejemplo de los resultados impresos obtenidos con un espectrómetro de masas computarizado. Las columnas impares de la tabla muestran un listado de valores de m/z en orden creciente. Las columnas pares contienen las correspondientes corrientes de iones normalizadas respecto al pico más grande que se ha encontrado a una masa de 156. A la corriente correspondiente a este ion se le asigna el número 1.000 y todos los demás picos se dan con respecto a este. Así, la altura del pico de masa 141 es el 82,6 por 100 del pico base.

Al igual que en espectroscopia de infrarrojo y de resonancia magnética nuclear, se dispone de extensas colecciones de espectros de masas (>150.000 entradas) en formatos compatibles con los ordenadores. La mayoría de los ordenadores empleados en los espectrómetros de masas comerciales son capaces de buscar con rapidez en todos o en parte de los archivos los espectros que coinciden o son muy parecidos al espectro del analito.

20D. APLICACIONES DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS MOLECULAR

Las aplicaciones de la espectrometría de masas molecular son tan numerosas y abarcan tantos campos que no es posible resumirlas en un espacio breve. En la Tabla 20-5 se relacionan algunas de ellas para dar una idea de la permanente presencia de esta técnica. En este apartado se estudian algunas de las aplicaciones más ampliamente utilizadas y más importantes.

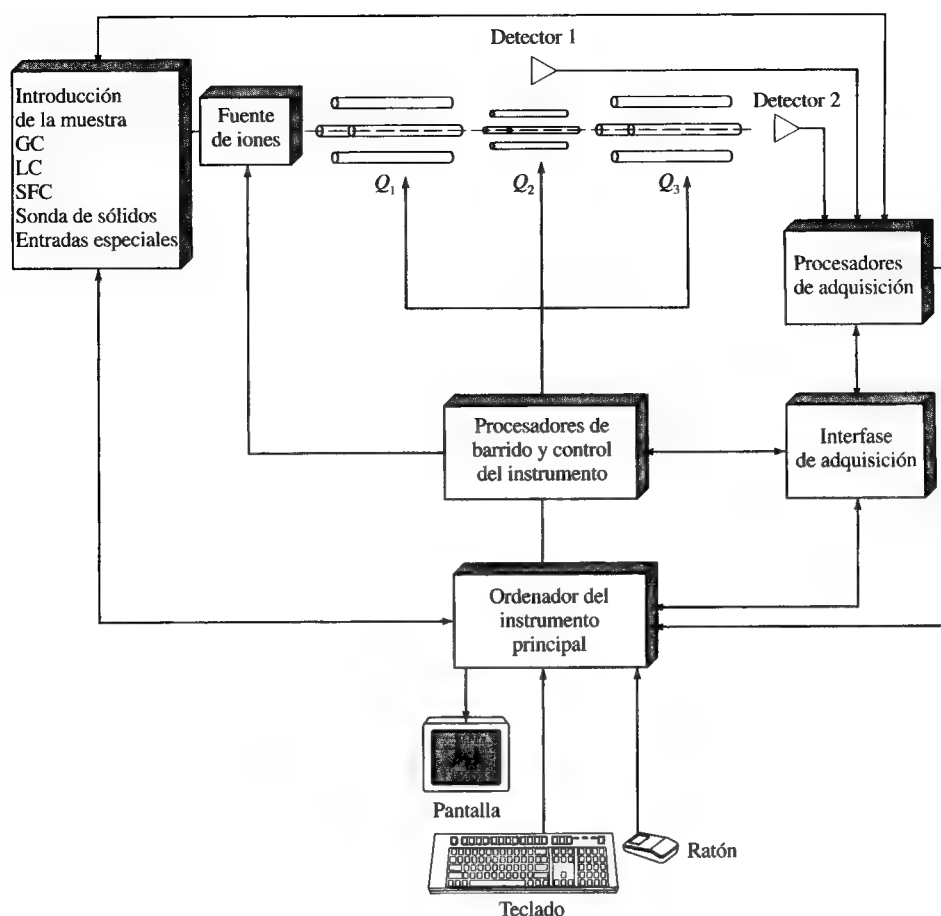


Figura 20-19. Esquema del control del instrumento y del procesamiento de los datos de un instrumento VG TRIO-3 de triple cuadrupolo MS/MS. (Cortesía de VG Instruments, Inc., Stanford, CT.)

20D-1. Identificación de compuestos puros²¹

El espectro de masas de un compuesto puro proporciona diversos tipos de datos que son útiles para su identificación. El primero es el peso molecular del compuesto y el segundo es su fórmula molecular. Además, el estudio de los modelos de fragmentación que se pone de manifiesto en el espectro de masas, a menudo, proporciona información sobre la presencia o ausencia de diversos grupos funcionales. Por último, la identidad real de un compuesto se puede establecer mediante la comparación de

su espectro de masas con los de compuestos conocidos hasta llegar a una total coincidencia.

Determinación de los pesos moleculares a partir de los espectros de masas

Para aquellos compuestos que pueden ionizarse por alguno de los métodos anteriormente descritos, dando un ion molecular o un ion molecular protonado o desprotonado, el espectrómetro de masas es una herramienta insuperable para la determinación del peso molecular. Esta determinación, naturalmente, requiere la identificación del pico del ion molecular, o en algunos casos, del pico $(M + 1)^+$ o $(M - 1)^+$. La localización del pico en la abscisa da el peso molecular con una precisión que no se puede alcanzar por ningún otro método.

Una determinación del peso molecular por es-

²¹ F. W. McLafferty, *Interpretation of Mass Spectra*, 3.ª ed. Mill Valley, CA: University Science Books, 1980; R. N. Silverstein, G. C. Bassler y T. C. Morrill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5.ª ed. New York: Wiley, 1991.

BARBITURATE

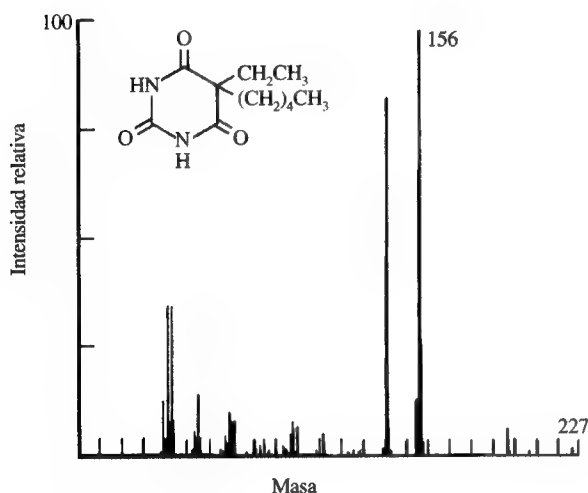
```

BACKGR 0 BASE 0 SUBTRY 0
IGNOR 0. 0. 0.
I F-S. 100 SEQUEM 191
BASE 10012 +2+ 0

```

36	3	61	2	83	38	108	4	133	3	166	1
37	3	62	1	84	13	109	14	134	2	167	2
38	12	63	3	85	36	110	9	135	2	168	3
39	139	64	1	86	8	111	18	136	2	169	5
40	38	65	13	87	9	112	73	137	6	179	1
41	364	66	13	88	1	113	21	138	7	181	4
42	83	67	58	91	5	114	18	139	6	183	7
43	378	68	33	92	3	115	2	140	28	185	2
44	84	69	120	93	4	116	1	141	826	191	1
45	6	70	67	94	21	117	1	142	71	193	1
50	5	71	89	95	17	119	2	143	11	195	2
51	11	72	5	96	20	120	1	144	1	197	65
52	14	73	9	97	55	121	2	151	1	198	10
53	64	74	8	98	127	122	4	152	1	199	2
54	31	75	3	99	9	123	5	153	6	204	1
55	162	77	10	100	3	124	7	155	133	207	6
56	30	78	5	101	3	125	4	156	1000	208	2
57	17	79	12	103	1	126	12	157	273	209	1
58	5	80	22	105	2	128	14	158	29	227	6
59	1	81	18	106	3	129	12	159	3	228	1
60	5	82	13	107	2	130	2	165	1		

Figura 20-20. Una pantalla de ordenador con los datos de los espectros de masas. El compuesto fue aislado de un extracto de suero sanguíneo por cromatografía. El espectro muestra que el compuesto es el barbitúrico, fenobarbital. El instrumento es un espectrómetro de masas computarizado DuPont modelo 21-094. (Cortesía de DuPont Instrument System, Wilmington, DE.)



A25 Identificación de la muestra 100
32 Número de barrido

pectrometría de masas requiere conocer con certeza la identidad del pico del ion molecular. Por esta razón es siempre aconsejable ser precavido, en particular con las fuentes de impacto de electrones, donde el pico del ion molecular puede estar ausente o ser pequeño en relación con los picos debidos a las impurezas. Cuando existen dudas, son particularmente útiles los espectros adicionales de ionización química, de ionización por campo y de ionización por desorción.

Fórmulas moleculares a partir de pesos moleculares exactos

Las fórmulas moleculares se pueden determinar a partir del espectro de masas de un compuesto, siempre que el pico del ion molecular pueda ser identificado y su masa *exacta* determinada. Sin embargo, esta aplicación requiere un instrumento de alta resolución, capaz de detectar diferencias de masas de pocas milésimas de unidad de masa. Con-

TABLA 20-5. Aplicaciones de la espectrometría de masas molecular

1. Elucidación de la estructura de moléculas orgánicas y biológicas.
2. Determinación del peso molecular de péptidos, proteínas y oligonucleótidos.
3. Identificación de los compuestos de cromatogramas en capa fina y papel.
4. Determinación de secuencias de aminoácidos en muestras de polipéptidos y proteínas.
5. Detección e identificación de especies separadas por cromatografía y electroforesis capilar.
6. Identificación de drogas de abuso y sus metabolitos en sangre, orina y saliva.
7. Control de gases en enfermos respiratorios durante los procesos quirúrgicos.
8. Pruebas para confirmar la presencia de drogas en sangre de caballos de carreras y en atletas olímpicos.
9. Datación de ejemplares en arqueología.
10. Análisis de partículas en aerosoles.
11. Determinación de residuos de pesticidas en alimentos.
12. Control de compuestos orgánicos volátiles en el agua de suministro.

sidérese por ejemplo las relaciones masa/carga de los siguientes compuestos: purina, $C_5H_8N_4$ ($m = 120,044$); benzamidina, $C_7H_8N_2$ ($m = 120,069$); etil tolueno C_9H_{12} ($m = 120,096$); y acetofenona C_8H_8O ($m = 120,058$). Si la masa medida del pico del ion molecular es $120,070 (\pm 0,005)$, todos excepto $C_7H_8N_2$ deben excluirse como fórmulas posibles. Obsérvese que la precisión en este ejemplo es de aproximadamente 40 ppm. Con instrumentos de doble enfoque de alta resolución se consiguen de forma rutinaria precisiones de algunas partes por millón. Se han compilado tablas que relacionan todas las combinaciones razonables de C, H, N, y O de un peso molecular que varía en la tercera o cuarta cifra decimal²². En la quinta columna de la Tabla 20-6 se presenta una pequeña muestra de una compilación de este tipo.

Fórmulas moleculares a partir de relaciones isotópicas

Los datos de un instrumento de baja resolución que sólo puede discriminar entre iones cuyas masas difieren en un número entero de masa, pueden dar información útil sobre la fórmula de un compuesto, con tal de que sólo el pico del ion molecular, sea suficientemente intenso para que su altura y las alturas de los picos de los isótopos $(M + 1)^+$ y $(M + 2)^+$ puedan determinarse con precisión. Los siguientes ejemplos ilustran este tipo de análisis.

El uso de las alturas relativas de los picos de isótopos para la determinación de las fórmulas mo-

leculares se facilita mucho con las tablas a que se refiere la nota 21 a pie de página; una pequeña parte de las cuales se muestra en la Tabla 20-6. En la última, se da un listado de todas las combinaciones razonables de C, H, O y N para los números de masa 83 y 84 (las tablas originales llegan hasta el número de masa 500). Están tabuladas las alturas de los picos $(M + 1)^+$ y $(M + 2)^+$ dadas como porcentajes de la altura del pico M^+ . Si se puede llevar a cabo una determinación experimental de esos porcentajes, con una precisión razonable, se puede deducir fácilmente una fórmula probable. Por ejemplo, un pico de ion molecular a una masa de 84 con valores de $(M + 1)^+$ y $(M + 2)^+$ de 5,6 por 100 y 0,3 por 100 de M^+ sugiere un compuesto que tenga la fórmula C_5H_8O .

La relación isotópica es particularmente útil para la detección y estimación del número de átomos de azufre, cloro y bromo que hay en una molécula debido a que contribuyen en gran medida a la formación de $(M + 2)^+$ (véase Tabla 20-3). Por ejemplo, la presencia de un $(M + 2)^+$ que es alrededor del 65 por 100 del pico M^+ indica que la molécula tiene dos átomos de cloro; por otro lado, un pico $(M + 2)^+$ del 4 por 100 sugiere la presencia de un átomo de azufre.

EJEMPLO 20-5

Calcular la relación de las alturas del pico $(M + 1)^+$ respecto al de M^+ para los dos compuestos siguientes: dinitrobenzeno, $C_6H_4N_2O_4$ ($m = 168$) y una olefina, $C_{12}H_{24}$ ($m = 168$).

²² J. H. Beynon y A. E. Williams, *Mass and Abundance Tables for Use in Mass Spectrometry*. New York: Elsevier, 1963.

En la Tabla 20-3, se puede ver que por cada 100 átomos de ^{12}C hay 1,08 átomos de ^{13}C . Como hay seis átomos de carbono en el nitrobenzeno, se podría esperar que hubiesen $6,48 = 6 \times 1,08$ moléculas de nitrobenzeno con un átomo de ^{13}C por cada 100 moléculas que no lo tuviesen. Por ello, sólo debido a este efecto el pico $(M + 1)^+$ será el 6,48 por 100 del pico M^+ . Los isótopos de los otros elementos también afectan a este pico y se pueden tabular los efectos como sigue:

$\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_4$	
^{13}C	$6 \times 1,08 = 6,48 \%$
^2H	$4 \times 0,015 = 0,060 \%$
^{15}N	$2 \times 0,37 = 0,74 \%$
^{17}O	$4 \times 0,04 = 0,16 \%$
	$(M + 1)^+/M^+ = 7,44 \%$
$\text{C}_{12}\text{H}_{24}$	
^{13}C	$12 \times 1,08 = 12,96 \%$
^2H	$24 \times 0,015 = 0,36 \%$
	$(M + 1)^+/M^+ = 13,32 \%$

Por tanto, si se pueden medir las alturas de los picos M^+ y $(M + 1)^+$, es posible discriminar entre estos dos compuestos que tienen pesos moleculares de número entero idéntico.

Información estructural a partir de modelos de fragmentación

Los estudios sistemáticos de modelos de fragmentación de sustancias puras han conducido al establecimiento de ciertas guías que permiten predecir los mecanismos de fragmentación y una serie de reglas generales que son de utilidad para la interpretación de espectros²³. Rara vez es posible (o deseable) explicar todos los picos del espectro. Sin embargo, si que se utilizan los modelos característicos de fragmentación. Por ejemplo, el espectro de la Figura 20-21 se caracteriza por grupos de picos que difieren en una masa de 14 unidades. Un modelo así es característico de las parafinas de cadena lineal, en las que la rotura de los enlaces carbono-carbono adyacentes da lugar a la pérdida sucesiva

de grupos CH_2 que tienen esta masa. Normalmente, los fragmentos de hidrocarburos más estables contienen tres o cuatro átomos de carbono y los picos correspondientes son más grandes.

Generalmente los alcoholes tienen un pico de ion molecular muy débil o inexistente pero, a menudo, pierden agua dando un pico intenso a $(M - 18)^+$. Es también frecuente la escisión del enlace C-C próximo a un oxígeno y los alcoholes primarios tienen siempre un pico intenso a una masa de 31 debido al CH_2OH^+ . Se dispone de extensas compilaciones de generalizaciones relacionadas con la utilización de los datos espectrales de masas para la identificación de compuestos orgánicos. El lector interesado puede consultar las referencias de la nota 21 a pie de página.

Identificación de compuestos por comparación de espectros

Generalmente a un técnico con experiencia, después de la determinación del peso molecular del analito, del estudio de su distribución isotópica y de la aplicación de los modelos de fragmentación, le es posible limitar las posibles estructuras a unas pocas. Cuando hay compuestos de referencia disponibles, la identificación final se basa en una comparación de los espectros de masas del analito con los espectros de muestras de referencia de los compuestos esperados. El procedimiento se establece suponiendo: (1) que los modelos de fragmentación son únicos y (2) que las condiciones experimentales se pueden controlar lo suficiente como para conseguir espectros reproducibles. La primera suposición, a menudo no es válida para los espectros de estereoisómeros o de isómeros geométricos y ocasionalmente tampoco es válida para ciertos tipos de compuestos muy relacionados entre sí. La probabilidad de que compuestos diferentes puedan tener el mismo espectro se hace cada vez menor a medida que el número de picos espectrales aumenta. Por esta razón, la ionización por impacto de electrones es el método de elección para la comparación de espectros.

Desafortunadamente, las alturas de los picos de los espectros de masas dependen en gran medida de variables tales como la energía del haz de electrones, la localización de la muestra con respecto al haz, la presión de la muestra, la temperatura y la geometría del espectrómetro de masas. En consecuencia, se observan variaciones significativas en la abundancia relativa para espectros obtenidos en

²³ Por ejemplo, véase R. M. Silverstein, G. C. Bassler y T. C. Morrill, *Spectrophotometric Identification of Organic Compounds*, 5.^a ed., págs. 13-16. New York: Wiley, 1991.

TABLA 20-6. Porcentajes de abundancia isotópica y pesos moleculares de diversas combinaciones de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno^a

Abundancia, % M altura de pico				
	Fórmula	M + 1	M + 2	Peso molecular
M = 83	C ₂ HN ₃ O	3,36	0,24	83,0120
	C ₂ H ₃ N ₄	3,74	0,06	83,0359
	C ₃ HNO ₂	3,72	0,45	83,0007
	C ₃ H ₃ N ₂ O	4,09	0,27	83,0246
	C ₃ H ₅ N ₃	4,47	0,08	83,0484
	C ₄ H ₃ O ₂	4,45	0,48	83,0133
	C ₄ H ₅ NO	4,82	0,29	83,0371
	C ₄ H ₇ N ₂	5,20	0,11	83,0610
	C ₅ H ₇ O	5,55	0,33	83,0497
	C ₅ H ₉ N	5,93	0,15	83,0736
	C ₆ H ₁₁	6,66	0,19	83,0861
M = 84	CN ₄ O	2,65	0,23	84,0073
	C ₂ N ₂ O ₂	3,00	0,43	83,9960
	C ₂ H ₂ N ₃ O	3,38	0,24	84,0198
	C ₂ H ₄ N ₄	3,75	0,06	84,0437
	C ₃ O ₃	3,36	0,64	83,9847
	C ₃ H ₂ NO ₂	3,73	0,45	84,0085
	C ₃ H ₄ N ₂ O	4,11	0,27	84,0324
	C ₃ H ₆ N ₃	4,48	0,08	84,0563
	C ₄ H ₄ O ₂	4,46	0,48	84,0211
	C ₄ H ₆ NO	4,84	0,29	84,0449
	C ₄ H ₈ N ₂	5,21	0,11	84,0688
	C ₅ H ₈ O	5,57	0,33	84,0575
	C ₅ H ₁₀ N	5,94	0,15	84,0814
	C ₆ H ₁₂	6,68	0,19	84,0939
	C ₇	7,56	0,25	84,0000

^a Tomado de R. M. Silverstein, G. C. Bassler y T. C. Morrill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 4.^a ed., pág. 49. New York: Wiley, 1981.

diferentes laboratorios y con distintos instrumentos. Sin embargo, en numerosas ocasiones ha sido posible identificar analitos mediante los espectros de las colecciones de espectros obtenidos con diversos instrumentos y en distintas condiciones de trabajo. No obstante es deseable confirmar la identidad de un compuesto por comparación de su espectro con el de un compuesto idéntico que se toma como referencia, obtenido con el mismo instrumento y en idénticas condiciones.

Sistemas computarizados de comparación de espectros. A pesar de que las colecciones de datos espectrales de masas están disponibles en forma de textos²⁴, los espectrómetros de masas más moder-

nos están equipados con sistemas computarizados de comparación de espectros muy eficaces. Normalmente, se dispone de dos tipos de colecciones de espectros: unas muy extensas y otras más pequeñas pero muy específicas. Las colecciones de espectros de masas más extensas (>150.000 espectros) disponibles se comercializan por John Wiley & Sons²⁵. Una característica especial de esta compilación es que esta disponible en disco compacto y que puede hacerse la comparación en un ordenador personal con un «software» (PBM- STIRS)²⁶ de la Universidad de Cornell. Las colecciones de espectros pequeñas normalmente contienen entre pocos

²⁵ F. W. McLafferty, *Registry of Mass Spectral Data*, 5.^a ed. New York: Wiley, 1989. En disco duro, casete y CD-ROM.

²⁶ G. M. Pesyna, R. Venkataraghavan, H. E. Daryinger y F. W. McLafferty, *Anal. Chem.*, 1976, 48, 1362.

²⁴ F. W. McLafferty y D. A. Stauffer, *The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data*, 7 vols. New York: Wiley, 1989.

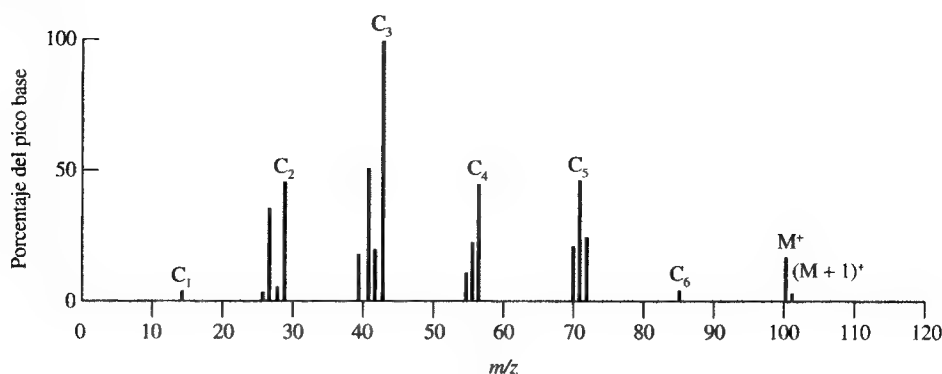


Figura 20-21. Espectro de impacto de electrones del *n*-heptanal. Los picos marcados por C₆, C₅, ..., C₁ corresponden a las pérdidas sucesivas de un grupo CH₂.

cientos y algunos miles de espectros aplicables a un área determinada, tal como residuos de pesticidas, drogas o muestras forenses. En ocasiones, éstas forman parte del paquete del equipamiento que ofrecen los fabricantes de instrumentos y es casi siempre posible que el usuario del instrumento genere una colección de espectros o complete la ya existente.

En el caso de disponer de un gran número de espectros, como los obtenidos cuando un espectrómetro de masas se acopla a un cromatógrafo para la identificación de los compuestos de una mezcla, el ordenador del instrumento se puede adaptar para efectuar una comparación de espectros de todos, o de cualquier subgrupo, de los espectros de masas que se obtienen para una determinada muestra. Los resultados se muestran al usuario y, si lo desea, los espectros de referencia se pueden visualizar en un monitor o se pueden imprimir para una comparación visual.

20D-2. Análisis de mezclas por métodos espectrales de masas acoplados

Aunque la espectrometría de masas es una poderosa herramienta para la identificación de compuestos puros, es insuficiente para el análisis de mezclas, incluso de las más simples, debido al gran número de fragmentos con diferentes valores de *m/z* producidos en cada caso. La interpretación del espectro resultante tan complejo es, a menudo, imposible. Por esta razón, los químicos han desarrollado métodos en los que el espectrómetro de masas está acoplado a un sistema de separación eficaz. Cuando se combinan dos o más técnicas analíticas o instrumentos, para dar lugar a un nuevo

dispositivo más eficaz, esta metodología se denomina *método acoplado*.

Cromatografía/espectrometría de masas

La cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS) se ha convertido en una de las más poderosas herramientas para el análisis de mezclas orgánicas y bioquímicas complejas al alcance de los químicos. En este caso, se efectúan los espectros de los compuestos que salen de la columna cromatográfica. Estos espectros son almacenados en un ordenador para el subsiguiente procesamiento. La espectrometría de masas se puede acoplar a la cromatografía de líquidos (LC/MS) para el análisis de muestras que tienen componentes no volátiles. El mayor problema que se ha de superar en el desarrollo de ambos métodos acoplados es que la muestra está en la columna cromatográfica muy diluida por el gas o el líquido portador que atraviesa la columna. Por tanto, se han tenido que desarrollar métodos para eliminar el eluyente antes de la introducción de la muestra en el espectrómetro de masas. En los Apartados 27D-3 y 28C-6 se describen los instrumentos y las aplicaciones de la GC/MS y LC/MS.

Electroforesis capilar/espectrometría de masas

La primera información sobre un acoplamiento de electroforesis capilar con espectrometría de masas fue publicada en 1987²⁷. Desde entonces es evi-

²⁷ J. A. Olivares, N. T. Nguyen, N. T. Yonker, R. D. Smith, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 1230. Véase también R. D. Smith, J. A. Olivares, N. T. Nguyen, y H. R. Hudseth, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, 436.

dente que este método acoplado se ha convertido en una poderosa e importante herramienta para el análisis de grandes biopolímeros tales como proteínas, polipéptidos y especies de DNA. En la mayoría de las aplicaciones publicadas hasta el momento, el efluente del capilar pasa directamente a un dispositivo de ionización por electronebulización y posteriormente los productos entran en el filtro de masas cuadrupolar para su análisis. En algunas aplicaciones, para la ionización también se utiliza el bombardeo con átomos rápidos en flujo continuo. En el Apartado 30B-4, se estudia con detalle la electroforesis capilar /espectrometría de masas.

Espectrometría de masas en tandem²⁸

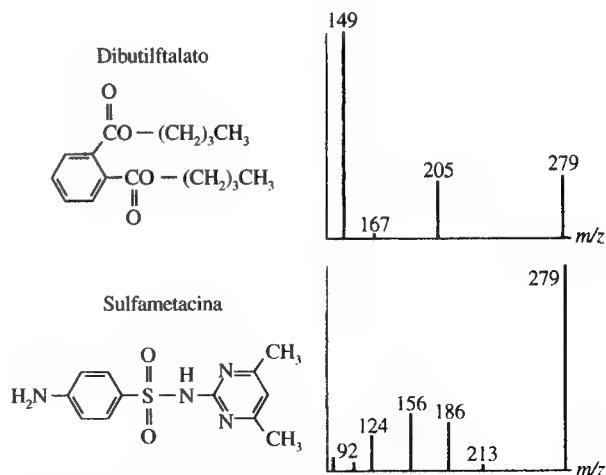
Otra técnica acoplada importante implica el acoplamiento de un espectrómetro de masas a otro. En este montaje, el primer espectrómetro sirve para aislar los iones moleculares de los diferentes componentes de una mezcla. Estos iones se introducen seguidamente uno detrás de otro en un segundo espectrómetro de masas donde son fragmentados para dar una serie de espectros de masas, uno por cada uno de los iones moleculares obtenidos en el primer espectrómetro. Esta técnica se denomina *espectrometría de masas en tandem* (a menudo abreviada como MS/MS).

En un instrumento en tandem, el primer espectrómetro está generalmente equipado con una fuente de ionización blanda (a menudo una fuente de ionización química) para que la salida sea mayoritariamente de iones moleculares o iones moleculares protonados. Estos iones pasan a continuación a la fuente de ionización del segundo espectrómetro. Normalmente esta segunda fuente de iones consiste en una cámara de colisiones libre de campo en la que se bombea helio. Las colisiones entre los iones progenitores de movimiento rápido y los átomos de helio produce fragmentaciones de los primeros dando numerosos iones hijos. El espectro de estos iones hijos se obtiene con el segundo espectrómetro. En este tipo de aplicación, el primer espectrómetro tiene la misma función que la columna cromatográfica en GC/MS o LC/MS, ya

que proporciona una por una especies iónicas puras para la identificación en el segundo espectrómetro.

Para ilustrar el poder de este sistema MS/MS, considérese una mezcla hipotética de los isómeros ABCD y BCDA y otras moléculas tales como IJKL y IMJN. Para diferenciar los dos isómeros, se utiliza una fuente de ionización blanda para producir fundamentalmente iones moleculares con una única carga. El primer espectrómetro se dispone para transmitir los iones de un valor m/z correspondiente a $ABCD^+$ y $BCDA^+$ (sus valores de m/z son idénticos). De este modo, los iones moleculares de los isómeros se separan de los otros componentes de la mezcla. En la cámara de ionización del segundo espectrómetro, tiene lugar la fragmentación por colisiones para producir los iones hijos tales como AB^+ , CD^+ , BC^+ , DA^+ y así sucesivamente. Debido a que estos fragmentos tienen relaciones masa/carga distintas, es posible la identificación de los dos isómeros originales en el segundo analizador. El primer espectrómetro se puede además disponer para transmitir iones $IJKL^+$ o $IMJN^+$, los cuales a su vez dan lugar a los iones IJ^+ , JKL^+ , MN^+ , JMN^+ y otros iones característicos que son también identificados mediante el segundo analizador.

La Figura 20-22 ilustra una aplicación práctica de esta técnica, la cual se denomina a veces *MS/MS de iones hijos*. El analito consiste en dos compues-



²⁸ J. V. Johnson y R. A. Yost, *Anal. Chem.*, **1985**, 57, 758A; R. G. Cooks y G. L. Glush, *Chem. Eng. News*, **30 de noviembre 1981**, 40, *Tandem Mass Spectrometry*, F. W. McLafferty, Ed. New York: Wiley, 1983; K. L. Busch, G. L. Glush y S. A. McLuckey, *Mass Spectrometry/Mass Spectrometry. Techniques and Applications of Tandem Mass Spectrometry*. New York: VCH Publishers, 1988.

Figura 20-22. Espectros de iones hijos del dibutylftalato y la sulfametacina obtenidos después de que los picos del ion padre protonado a 279 daltons fuera aislado por el primer espectrómetro de un instrumento MS/MS. (Reproducido de K. L. Busch y G. C. DiDonato, *Amer. Lab.*, **1986**, 18(8), 17. Copyright 1986 por International Scientific Communication, Inc.)

tos muy diferentes que tienen un número de masa idéntico de 278. Para diferenciar entre ambos, el primer espectrómetro se situó en la masa de los iones progenitores protonados (279). Los dos espectros, bastante diferentes, de los iones hijos que se muestran se obtuvieron después de una ionización por colisión y el paso a través de un segundo espectrómetro. En otro tipo de espectrometría de masas en tándem, llamada MS/MS de *iones progenitores*, el primer espectrómetro efectúa el barrido mientras que el segundo espectrómetro se coloca en la masa de uno de los iones hijos. Generalmente, los compuestos relacionados muy parecidos dan iones hijos iguales, por lo que este método de operación proporciona una medida de la identidad y concentración de los *componentes de un tipo* de compuestos muy relacionados. Por ejemplo, la mezcla hipotética descrita anteriormente contenía los compuestos relacionados IJKL e IJMN. Para identificar las especies que contienen el grupo IJ, el segundo espectrómetro se fija a la masa correspondiente al ion IJ^+ mientras que se hace el barrido del espectro de masas de los iones progenitores ($ABCD^+$, $BCDA^+$, $IJKL^+$ e $IJMN^+$). En el segundo espectrómetro sólo se observarán corrientes de iones cuando los dos últimos iones hubieran salido del primer espectrómetro.

Un ejemplo práctico de un MS/MS de iones progenitores es la determinación de alquilfenoles

($HOC_6H_4CH_2R$) en disolventes refinados del carbón. En este experimento, el segundo espectrómetro se sitúa en un valor de m/z de 107, que corresponde al ion $HOC_6H_4CH_2^+$; se realiza un barrido de la muestra con el primer espectrómetro. Todos los alquilfenoles de la muestra dan un ion a una masa correspondiente de 107 independientemente de la naturaleza de R. Por ello, es posible determinar esta clase de compuestos en una muestra compleja.

Instrumentos para espectrometría de masas en tándem

Los espectrómetros de masas en tándem se construyen a partir de diversas combinaciones de sector magnético, sector electrostático y separador de filtro de cuadrupolo²⁹. En los instrumentos en tándem

que se describen, estos separadores de masas se designan por B, E y Q respectivamente. Por ejemplo, un instrumento BE consta de un sector magnético seguido de un sector electrostático; un instrumento EBEB dispone de dos espectrómetros de masas de doble enfoque cada uno formado por un sector electrostático y uno magnético. Normalmente, el espectrómetro de masas en tándem más ampliamente utilizado tiene una configuración QQQ la cual se ilustra en las Figuras 20-19 y 20-23. En este caso, la muestra se introduce en una fuente de ionización blanda, como por ejemplo de ionización química. Seguidamente los iones son acelerados en la primera etapa, o separados de los iones progenitores mediante un filtro de cuadrupolo ordinario. Los iones separados más rápidos pasan entonces a un segundo cuadrupolo, que es una cámara de colisiones donde tiene lugar la posterior ionización de los iones progenitores producida en el primer cuadrupolo. El segundo cuadrupolo opera en *modo de radiofrecuencia única*, esto es, no se aplica ningún potencial de corriente continua a las barras³⁰. Este sistema proporciona un procedimiento muy eficaz para enfocar los iones dispersados pero no actúa como un filtro de masas. Se bombea helio a esta cámara, dando una presión de 10^{-3} a 10^{-4} torr. Aquí, tiene lugar una posterior ionización como consecuencia de las colisiones entre los iones progenitores, que se mueven rápidamente, con los átomos de helio de la cámara. Los iones hijos resultantes pasan al tercer cuadrupolo, donde son sometidos a un barrido y registrados de la manera habitual.

Aplicaciones de la espectrometría de masas en tándem

El gran avance en el análisis de mezclas complejas orgánicas y biológicas se inició cuando los espectrómetros de masas se combinaron, primero con la cromatografía de gases y después con la cromatografía de líquidos. La espectrometría de masas en tándem puede ofrecer las mismas ventajas que la GC/MS y LC/MS pero es significativamente más rápida. Mientras que las separaciones en una columna cromatográfica se realizan en un tiempo que va de pocos minutos a horas, las mismas separaciones se realizan en los espectrómetros de masas en tándem en milisegundos y son igualmente satisfac-

²⁹ Para una descripción de los espectrómetros de masas en tándem comercialmente disponibles, véase D. Noble, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 265A. El coste de estos instrumentos está entre 300.000 y 1.000.000 de \$.

³⁰ La ausencia de un potencial de corriente continua en el segundo cuadrupolo de la Figura 20-23 se indica a veces en la descripción de instrumento como QqQ en vez de QQQ.

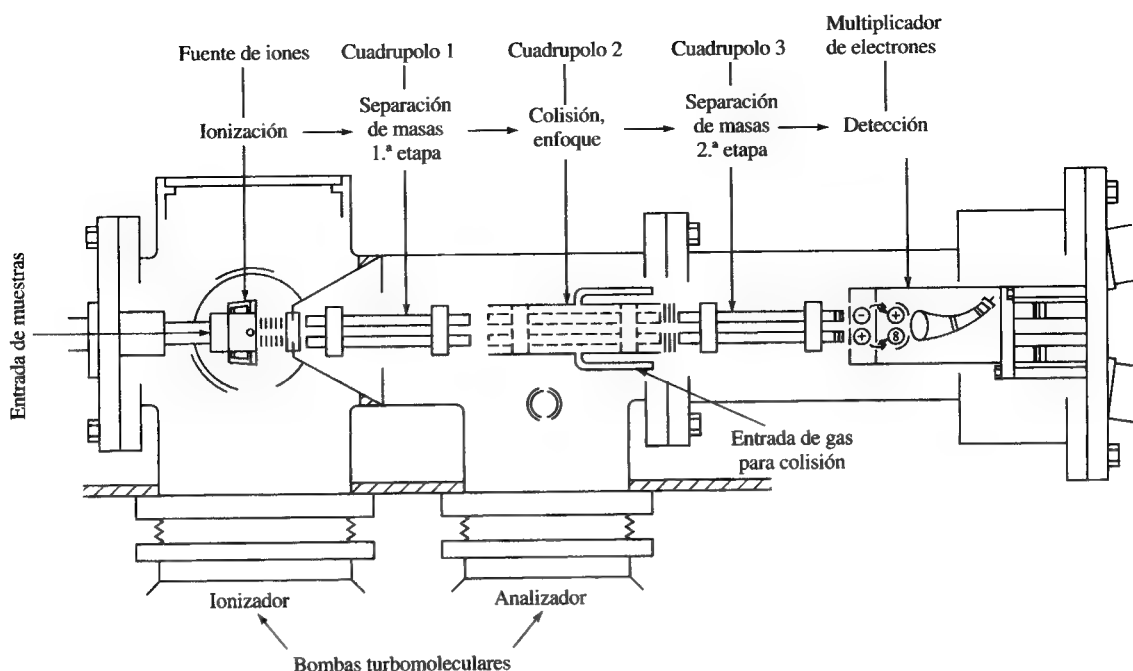


Figura 20-23. Esquema de un instrumento en tándem cuadrupolar MS/MS. (Cortesía de Finnigan MAT, San José, CA.)

torias. Además, las técnicas cromatográficas requieren la dilución de la muestra con un gran exceso de fase móvil y la subsiguiente eliminación de la fase móvil, lo que incrementa en gran medida la probabilidad de introducir interferencias. En consecuencia, la espectrometría de masas en tándem es potencialmente más sensible que cualquiera de las técnicas cromatográficas acopladas, ya que el ruido químico que se produce es generalmente menor. Una desventaja de la espectrometría de masas en tándem con respecto a los otros dos procedimientos cromatográficos es el elevado coste del equipo, siendo este hecho determinante en el menor uso de dichos instrumentos.

Hasta ahora, la espectrometría de masas en tándem se ha aplicado a la determinación cualitativa y cuantitativa de los componentes de una amplia variedad de materiales complejos que se hallan en la naturaleza y en la industria. Algunos ejemplos incluyen la identificación y determinación de metabolitos de drogas, feromonas de insectos, alcaloides en plantas, trazas de contaminantes en el aire, secuencias de polímeros, compuestos petroquímicos, bifenilos policlorados, prostaglandinas, gases de escape de motores diesel y olores en el aire. La espectrometría de masas en tándem se revela como una técnica cada vez de mayor aplicación entre científicos e ingenieros.

20E. APLICACIONES CUANTITATIVAS DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Las aplicaciones de la espectrometría de masas para análisis cuantitativo son de dos tipos. El primero está relacionado con la determinación cuantitativa de especies moleculares o tipos de especies moleculares en muestras orgánicas, biológicas y ocasionalmente inorgánicas. El segundo, está relacionado con la determinación de la concentración de elementos en muestras inorgánicas y, en menor medida, de muestras orgánicas y biológicas. En el primer tipo de análisis se utilizan todas las fuentes de ionización enumeradas en la Tabla 20-1. En el análisis elemental por espectrometría de masas estudiado con detalle en el Capítulo 11, se utilizan mucho las fuentes de plasma de acoplamiento inductivo así como las fuentes de chispa de radiofrecuencia, de láser, térmicas, de iones secundarios y de descarga incandescente.

20E-1. Determinación cuantitativa de especies moleculares

La espectrometría de masas es muy utilizada para la determinación cuantitativa de uno o más compo-

nentes en sistemas complejos orgánicos (y a veces inorgánicos) tales como los que existen en las industrias farmacéuticas o del petróleo, así como en estudios de problemas medioambientales³¹. Normalmente, tales análisis se llevan a cabo haciendo pasar la muestra a través de una columna cromatográfica o de electroforesis capilar y posteriormente por el espectrómetro. Con el espectrómetro a un valor adecuado de m/z , se registra la corriente de iones en función del tiempo. Esta técnica se denomina *control selectivo de iones*. En algunos casos, se controlan de forma cíclica, corrientes de tres o cuatro veces el valor m/z mediante un cambio rápido de un pico a otro. La representación gráfica de los datos, llamada *cromatograma de masas*, consiste en una serie de picos cromatográficos cada uno de los cuales aparece a un tiempo que es característico de uno de los diversos componentes de la muestra que da iones del valor o valores elegidos de m/z . Generalmente, las áreas de los picos son directamente proporcionales a las concentraciones del componente y por tanto, sirven como parámetro analítico. En este procedimiento, el espectrómetro de masas actúa simplemente como un sofisticado detector selectivo para un *análisis cromatográfico o electroforético cuantitativo*. Más detalles de la cromatografía de gases y de líquidos cuantitativa se dan en los Apartados 27D-3 y 28C-6. El uso del espectrómetro de masas como detector en electroforesis capilar se describe en el Apartado 30B-4.

En el segundo tipo de espectrometría de masas cuantitativa para especies moleculares, las concentraciones de analito se obtienen directamente a partir de las alturas de los picos de los espectros de masas. A veces, para mezclas sencillas, es posible encontrar para cada componente, picos a un valor m/z único. En estas condiciones, se pueden preparar *curvas de calibrado* de las alturas de los picos frente a la concentración y utilizarlas para el análisis cuantitativo. Sin embargo, se pueden obtener resultados más precisos añadiendo una cantidad fija de una sustancia patrón interno tanto a las muestras como a los patrones de calibración. Seguidamente se representa la relación entre la intensidad de pico de las especies de analito y los patrones internos en función de la concentración de

analito. El patrón interno tiende a reducir las incertidumbres que surgen en la preparación de la muestra y en su introducción. Dadas las pequeñas cantidades de muestra que se requieren en espectrometría de masas, estas incertidumbres son, a menudo, la mayor fuente de errores indeterminados. Los patrones internos se utilizan también en GC/MS y LC/MS y, en este caso, la relación de las áreas de los picos sirve como parámetro analítico.

Un tipo de patrón interno adecuado es un análogo estable del analito marcado isotópicamente. Usualmente, el marcaje implica la preparación de una muestra en la que se han incorporado uno o más átomos de deuterio, carbono 13 o nitrógeno 15. Se supone que durante el análisis, las moléculas marcadas se comportan de la misma forma que las no marcadas. El espectrómetro de masas, naturalmente, distingue fácilmente entre las dos.

Otro tipo de patrón interno es un homólogo del analito que dé un pico de ion de intensidad razonable para un fragmento que sea químicamente similar al fragmento del analito a medir.

Con instrumentos de baja resolución raramente se pueden localizar picos que sean únicos para cada componente de una mezcla. En este caso, es también posible realizar el análisis recogiendo datos de intensidad a un valor m/z que sea igual o superior al número correspondiente al de los componentes de la muestra. En consecuencia se establecen sistemas de ecuaciones que relacionan la intensidad de cada valor de m/z con la aportación que hace cada componente a esa intensidad. Resolviendo estas ecuaciones se obtiene la información cuantitativa deseada. El procedimiento aquí es análogo al método descrito en el Apartado 14D-2 para la determinación espectrofotométrica de los componentes en mezclas de moléculas que tienen espectros de absorción solapados en la región del ultravioleta/visible.

Precisión y exactitud

La precisión de las medidas cuantitativas de los espectros de masas realizadas por el procedimiento descrito está en el intervalo del 2 al 10 por 100 relativo. La exactitud analítica varía considerablemente dependiendo de la complejidad de la mezcla a analizar y de la naturaleza de sus componentes. En mezclas de hidrocarburos gaseosos que contengan de 5 a 10 componentes, son típicos errores de 0,2 a 0,8 moles por ciento.

³¹ Para una monografía dedicada a la espectrometría de masas cuantitativa, véase B. J. Millard, *Quantitative Mass Spectrometry*. London: Heyden, 1978.

Aplicaciones

La bibliografía más reciente relacionada con las aplicaciones cuantitativas directas de la espectrometría de masas es tan extensa que es difícil resumirla. La relación de las aplicaciones más características reunida por Melpolder y Brown³² demuestra claramente la versatilidad del método. Por ejemplo, algunas de las mezclas que pueden ser analizadas sin calentar la muestra incluyen el gas natural; hidrocarburos C_3-C_5 ; hidrocarburos saturados C_6-C_8 ; cloruros y ioduros C_1-C_4 ; fluorocarburos, tiofenos, contaminantes atmosféricos, gases de escape y muchas otras. Utilizando temperaturas elevadas, se han descrito métodos muy útiles para alcoholes $C_{16}-C_{27}$, ácidos aromáticos y ésteres, esteroides, polifenilos fluorados, amidas alifáticas,

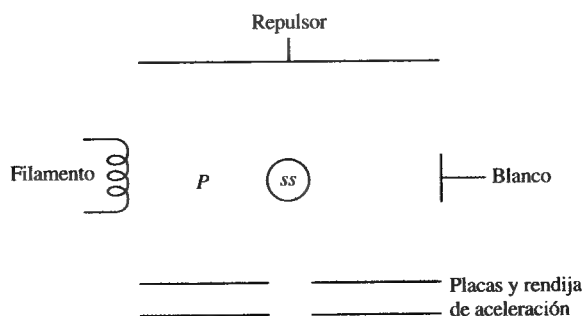
derivados aromáticos halogenados y nitrilos aromáticos.

La espectrometría de masas ha sido también utilizada para la caracterización y análisis de materiales poliméricos de elevado peso molecular. En este caso, la muestra se piroliza primero; los productos volátiles son posteriormente introducidos en el espectrómetro para su examen. Como alternativa, el calentamiento se puede llevar a cabo en la sonda de un sistema de entrada directo. Algunos polímeros dan esencialmente un fragmento único; por ejemplo, el isopreno que proviene del caucho natural, el estireno del poliestireno, el etileno del polietileno y el $CF_2=CFCl$ del Kel-F. Otros polímeros dan dos o más productos, lo cual depende de la cantidad y de la temperatura de la pirólisis. Estudios sobre los efectos de la temperatura pueden proporcionar información sobre la estabilidad de los diversos enlaces, así como sobre la distribución de pesos moleculares aproximada.

³² Véase F. W. Melpolder y R. A. Brown, en *Treatise on Analytical Chemistry*, I. M. Kolthoff y P. J. Elving, Eds., Parte I, Vol. 4, pág. 2047. New York: Interscience, 1963.

20F. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 20-1. ¿En qué difieren las fuentes gaseosas y las de desorción? ¿Cuáles son las ventajas de cada una de ellas?
- 20-2. ¿En qué difieren los espectros de impacto de electrones, de ionización por campo y de ionización química?
- 20-3. Describir las fuentes de ionización por campo gaseosas y las de ionización por campo de desorción.
- 20-4. La siguiente figura es un diagrama simplificado de una fuente de impacto de electrones disponible comercialmente.
 - (a) ¿Qué potencial se debe aplicar entre el filamento y el blanco para que los electrones que interaccionan con las moléculas en el punto marcado SS (fuente de muestra) tengan una energía cinética de 70 eV?
 - (b) ¿Qué le sucede a una molécula que difunde hacia el filamento y se ioniza en el punto P?



- 20-5.** Cuando un instrumento de sector magnético opera con un potencial de aceleración de $3,00 \times 10^3$ V se requiere un campo de 0,126 T para enfocar el CH_4^+ en el detector.
- ¿Qué intervalo de campo magnético se necesitaría para barrer el intervalo de masas comprendido entre 16 y 250, para iones con una sola carga, si el potencial de aceleración se mantiene constante?
 - ¿Qué intervalo de potenciales de aceleración se necesitaría para barrer el intervalo de masas comprendido entre 16 y 250, para iones con una única carga, si la fuerza del campo se mantiene constante?
- 20-6.** Calcular el potencial de aceleración que sería necesario para dirigir iones con una única carga de masa 10.000 a través de un instrumento que es idéntico al descrito en el Ejemplo 20-2 (página 542).
- 20-7.** El potencial de aceleración de iones en un espectrómetro de masas de cuadrupolo es de 5,00 V. ¿Cuánto tiempo tardará un ion benceno con una sola carga en recorrer la longitud del conjunto de barras una distancia de 15,0 cm?
- 20-8.** En la página 275 se realiza un estudio cualitativo que describe cómo se comporta un ion positivo en el plano xz (plano de potencial de corriente continua positivo) de un filtro de masas de cuadrupolo. Elaborar un razonamiento similar para explicar el comportamiento de los iones positivos en el plano zx (plano de potencial de corriente continua negativo).
- 20-9.** ¿Por qué los espectrómetros de masas de doble enfoque dan picos más estrechos y tienen una resolución más alta?
- 20-10.** Calcular la resolución necesaria para resolver picos para
- CH_2N ($P_m = 28,0187$) y N_2^+ ($P_m = 28,0061$).
 - C_2H_4^+ ($P_m = 28,0313$) y CO^+ ($P_m = 27,9949$).
 - $\text{C}_3\text{H}_7\text{N}_3^+$ ($P_m = 85,0641$) y $\text{C}_5\text{H}_9\text{O}^+$ ($P_m = 85,0653$).
 - $^{116}\text{Sn}^+$ ($P_a = 115,90219$) y $^{232}\text{Th}^{2+}$ ($P_a = 232,03800$).
- 20-11.** Calcular la relación entre las alturas de pico $(M + 2)^+$ y M^+ para (a) $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{Br}_2$, (b) $\text{C}_3\text{H}_7\text{ClBr}$, (c) $\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2$.
- 20-12.**
- Dibujar un circuito amplificador operacional (véase Capítulo 3) que sea compatible con el detector de copa de Faraday ilustrado en la Figura 11-4; este circuito debería proporcionar una ganancia de tensión de 100.
 - Dibujar un segundo circuito amplificador operacional que controle la corriente en vez del potencial; este circuito debería proporcionar un potencial de salida igual al del circuito del apartado (a).
- 20-13.** En un espectrómetro de masas de sector magnético (enfoque simple), puede ser conveniente en algunos casos controlar un determinado valor m/z , a continuación controlar un segundo valor m/z y repetir este control de una forma cíclica. El cambio rápido entre dos potenciales de aceleración mientras se mantienen las otras condiciones constantes se conoce como *igualar picos*.
- Deducir una expresión general que pueda utilizarse para establecer la relación entre los potenciales de aceleración y los valores de m/z correspondientes.
 - Utilizar esta ecuación para calcular la m/z del pico de un analito, si la m/z del compuesto que se utiliza como patrón es de 69,00 y la relación $V_{\text{analito}}/V_{\text{patrón}}$ es 0,965035.
 - Basándose en la respuesta del apartado (b) y suponiendo que el analito es un compuesto orgánico de masa 143, establecer algunas conclusiones sobre la respuesta del apartado (b) y sobre el compuesto.

- 20-14.** Si se desea medir la masa aproximada de un ion sin utilizar un patrón, se puede hacer siguiendo la técnica de igualar picos descrita en el Problema 20-13. Esta técnica se utiliza para conseguir que el ion P^+ y el $(P + 1)^+$ alcancen alternativamente el detector. Se supone que la diferencia de masas entre P^+ y $(P + 1)^+$ es debida a un único ^{13}C .
- (a) Deducir una ecuación que relacione el cociente de los potenciales de aceleración del ion $V(P + 1)/V(P)$ con la masa de P^+ . Suponer que todos los iones tienen una única carga.
 - (b) Si $V(P + 1)/V(P) = 0,987753$, calcular la masa del ion P^+ .
- 20-15.** Identificar los iones responsables de los picos del espectro de masas de la Figura 20-19b.
- 20-16.** Identificar los iones responsables de los cuatro picos que tienen masas mayores que el pico M^+ en la Figura 20-4a.



Capítulo 21

Caracterización de superficies por espectroscopia y microscopia

Normalmente la superficie de un sólido en contacto con un líquido o con un gas difiere sustancialmente del interior del sólido tanto en su composición química como en sus propiedades físicas. La caracterización de estas propiedades de la superficie, a menudo, es de vital importancia en numerosos campos que incluyen la catálisis heterogénea, la tecnología de películas delgadas semiconductoras, los mecanismos de corrosión y de adhesión, la actividad de las superficies metálicas, las características de dureza y los estudios sobre el comportamiento y las funciones de las membranas biológicas. Este capítulo trata de la caracterización de superficies sólidas mediante métodos espectroscópicos y microscópicos.

21A. INTRODUCCIÓN AL ESTUDIO DE LAS SUPERFICIES

Antes de considerar cómo se caracterizan las superficies, es necesario definir qué es la superficie de un sólido que está en contacto con una segunda fase líquida o gaseosa.

21A-1. Definición de una superficie sólida

Se considerará superficie a la capa limite entre un sólido y un vacío, un gas o un líquido. Generalmente se piensa en la superficie como la parte del sólido que difiere en su composición de la composición promedio del conjunto del sólido. De acuerdo con esta definición, la superficie comprende no solo la capa superior de átomos o moléculas de un sólido, sino también la capa de transición con una composición no uniforme y que varía continuamente desde la capa más externa hasta alcanzar el volumen del sólido. Así, una superficie puede estar constituida por diversas o varias decenas de capas atómicas. Sin embargo, la diferencia en la composición de las capas superficiales no afecta significativamente a la medida completa de la composición promedio del conjunto, ya que la capa superficial generalmente constituye sólo una pequeña fracción del total (sólido). Desde un punto de vista práctico, parece más correcto aceptar una definición operacional de superficie como aquél volumen de un sólido que muestrea una técnica específica de medida. Esta definición admite el hecho de que si se emplean varias técnicas de superficie, el químico puede tomar muestras de distintas

superficies y puede obtener en consecuencia diferentes, aunque útiles, resultados.

21A-2. Tipos de medidas de superficies

A lo largo del último siglo se han desarrollado una extensa variedad de métodos para la caracterización de superficies. Los métodos clásicos, que todavía son de gran importancia, proporcionan una valiosa información acerca de la naturaleza física de las superficies, pero no tanto sobre su naturaleza química. Estos métodos implican la obtención de imágenes de las superficies por microscopia óptica y electrónica así como las medidas de las isothermas de adsorción, las áreas y la rugosidad de la superficie, el tamaño de los poros, y la reflexibilidad. A comienzos de los años cincuenta, los métodos espectroscópicos que empezaron a aparecer demostraron proporcionar información acerca de la naturaleza química de las superficies.

Este capítulo está dividido en dos grandes apartados, el primero, (Apartado 21B) relativo a los métodos espectroscópicos para la determinación de las especies químicas que recubren las superficies de los sólidos y para la identificación de sus concentraciones. Los dos apartados siguientes (Apartado 21C y Apartado 21D), describen los métodos microscópicos modernos para la visualización de las superficies y la determinación de su morfología o de sus propiedades físicas.

21B. MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS DE SUPERFICIES

Generalmente la composición química de un sólido difiere, con frecuencia de forma significativa, de la composición interior o del volumen del sólido. La mayor parte de este texto se ha centrado en los métodos analíticos que proporcionan información solamente sobre la composición de volumen de los sólidos. En ciertas áreas de la ingeniería y de la ciencia, conocer la composición química de la capa superficial de un sólido es mucho más importante que conocer la composición general del material.

Los métodos espectroscópicos de superficies informan tanto cualitativa como cuantitativamente sobre la composición química de la capa superficial de un sólido que tiene unos pocos angstroms o décimas de angstrom de espesor. En este apartado

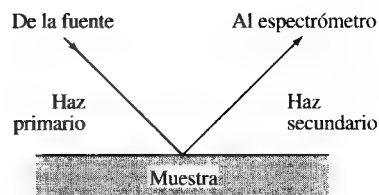


Figura 21-1. Esquema general de la espectrometría de superficies. El haz puede ser de fotones, electrones o iones.

se describen cinco de las técnicas espectroscópicas más utilizadas¹.

21B-1. Técnica general en espectroscopia de superficies

La Figura 21-1 muestra la manera general de llevar a cabo el examen espectroscópico de una superficie. Una muestra sólida se irradia con un *haz primario* de fotones, electrones, iones o moléculas neutras. El impacto de este haz con la superficie da como resultado un *haz secundario* también de fotones, electrones, iones o moléculas neutras de la superficie del sólido. Hay que señalar que el tipo de partícula que forma el haz primario no tiene necesariamente que ser del mismo tipo que la del haz secundario. El haz secundario, que es consecuencia de un proceso de dispersión de evaporación por bombardeo (*sputtering*), o de emisión, que se estudia a continuación por diversos métodos espectroscópicos.

Los métodos de superficie más eficaces son aquellos en los que el haz primario, el haz secundario o ambos están constituidos bien por electrones, iones o moléculas, pero no por fotones, debido a que esta limitación asegura que las medidas se ciñan a las superficies de las muestras y no a su totalidad. Por ejemplo, la máxima penetración en profundidad de un haz de iones o electrones de 1 keV es aproximadamente 25 Å, mientras que la penetración de un haz de fotones de la misma energía es de 10^4 Å. Así, debe tenerse especial precaución con los métodos en los que están implicados haces de fotones tales como la fluorescencia de rayos X, resonancia Raman o espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo, para limitar las medidas a la capa de la superficie. Aunque es posible el estudio de las superficies por estos métodos, evitar la interferen-

¹ Para una descripción de las distintas técnicas espectroscópicas, véase *Spectroscopy of Surfaces*, R. G. H. Clark y R. E. Hester, Eds., New York: Wiley, 1988.

TABLA 21-1. Tipos de métodos espectroscópicos para el análisis de superficies

Método y acrónimo	Haz primario	Haz secundario
Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS) o espectroscopia de electrones para análisis químico (ESCA)	Fotones de rayos X	Electrones
Espectroscopia de electrones Auger (AES)	Electrones o fotones de rayos X	Electrones
Espectroscopia fotoelectrónica ultravioleta (UPS)	Fotones UV	Electrones
Espectrometría de masas de ion secundario (SIMS)	Iones	Iones
Espectrometría de masas con microsonda de láser (LMMS)	Fotones	Iones
Microsonda de electrones (EM)	Electrones	Fotones de rayos X

cia del volumen de sólido a menudo es molesto. Por ello no se considerarán los métodos que utilizan dos haces de fotones.

Métodos espectroscópicos de superficies

Hércules y Hércules han elaborado una relación de aproximadamente una docena de técnicas espectroscópicas de superficies que han sido desarrolladas en las últimas cuatro décadas y han clasificado estas técnicas considerando la naturaleza de los haces primario y secundario². De estos métodos espectroscópicos los seis más ampliamente utilizados son los que se describen en este apartado y se presentan en la Tabla 21-1³.

Muestreo de las superficies

Se emplean tres tipos de métodos de muestreo dependiendo del tipo de método espectroscópico de superficies que se utilice. El primero de ellos implica la focalización del haz primario en una única área pequeña de la muestra y la observación del haz secundario. Con frecuencia, la zona se elige visualmente con un microscopio óptico. El segundo método supone el mapeo (*mapping*) de la superficie, para lo que se barre una región de la superficie por desplazamiento del haz primario a través de la misma observándose los cambios que se origi-

nan en el haz secundario al medir las porciones en un *rastreo programado* (*raster pattern*). El trazado del mapa puede ser lineal o bidimensional. La tercera técnica se conoce con el nombre de *perfil de profundidad*. En este caso un haz de iones procedentes de un cañón de iones se utiliza para oradar la superficie por erosión por bombardeo (*sputtering*). Durante este proceso, se utiliza un haz primario más fino para originar el haz secundario procedente del centro del orificio, que proporciona datos analíticos de la composición de la superficie en función de su profundidad.

Contaminación de la superficie

Un problema que se presenta frecuentemente en los análisis de superficies es la contaminación de la superficie que está siendo examinada por adsorción de los componentes de la atmósfera tales como, oxígeno, agua o dióxido de carbono. Incluso en el vacío, este tipo de contaminación se produce en un tiempo relativamente corto. Por ejemplo, se ha demostrado que a una presión de 10^{-6} torr, una superficie limpia llegará a recubrirse de una monocapa de moléculas gaseosas en sólo 3 s. A 10^{-8} torr se recubre en aproximadamente 1 hora. A 10^{-10} torr se necesitan 10 horas⁴. Como consecuencia de los problemas de adsorción, a menudo deben hacerse previsiones para limpiar la superficie de la muestra, normalmente en una cámara donde la muestra es irradiada. La limpieza puede implicar calenta-

² D. M. Hércules y S. H. Hércules, *J. Chem. Educ.*, **1984**, 61, 403.

³ Para una revisión de los métodos más importantes, véase D. M. Hércules, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 1177A, D. M. Hércules y S. H. Hércules, *J. Chem. Educ.*, **1984**, 61, 403, 483, 592.

⁴ D. M. Hércules y S. H. Hércules, *J. Chem. Educ.*, **1984**, 61, 403.

miento a alta temperatura de la muestra; bombardeo (*sputtering*) de la muestra con un haz de iones de un gas inerte procedentes de un cañón de electrones; raspado mecánico o pulido de la superficie de la muestra con un abrasivo; lavado ultrasónico de la muestra con varios disolventes; y lavado de la muestra en atmósfera reductora para eliminar los óxidos.

Además de la contaminación atmosférica debería conocerse que el haz primario en si mismo puede alterar la superficie en el transcurso de la medida. Los daños causados por el haz primario dependen del momento de las partículas del haz primario; así, de los distintos tipos de haces relacionados en la Tabla 21-1, los iones son los más dañinos y los fotones, los menos.

21B-2. Espectroscopia de electrones

Los tres primeros métodos relacionados en la Tabla 21-1 están basados en el análisis de los electrones emitidos, producidos por varios haces incidentes. La señal del analito está formada más por haces de electrones que de fotones. Las medidas espectrométricas consisten en la determinación de la potencia de este haz en función de la energía (o de la frecuencia, $h\nu$) de los electrones. Este tipo de espectroscopia se denomina *espectroscopia de electrones*.

A pesar de que los principios básicos de la espectroscopia de electrones se comprenden bien desde hace un siglo, la aplicación generalizada de esta técnica a problemas químicos no ha tenido lugar hasta hace relativamente poco. Un factor importante que frenó los estudios en este campo fue la falta de tecnología para llevar a cabo las medidas espectrales de alta resolución de electrones con energías que varían desde unas pocas décimas de electronvoltio hasta varios miles. A finales de los años sesenta, se desarrolló esta tecnología y empezaron a aparecer en el mercado espectrómetros de electrones comerciales. Con su aparición tuvo lugar un crecimiento explosivo en el número de publicaciones en este campo⁵.

Se pueden diferenciar tres tipos de espectroscopia de electrones para el estudio de las superficies. El tipo más común, que se basa en la irradiación de la superficie de la muestra con radiación X monocromática, se llama *espectroscopia fotoelectrónica de rayos X* (XPS, X-ray photoelectron spectroscopy), también denominada *espectroscopia de electrones para el análisis químico* (ESCA, electron spectroscopy for chemical analysis). Una gran parte de este capítulo se refiere al XPS. El segundo tipo de espectroscopia de electrones es la llamada *espectroscopia de electrones Auger* (AES, Auger electron spectroscopy). Muy frecuentemente el espectro Auger se obtiene por excitación con un haz de electrones, aunque también se utilizan los rayos X. La espectroscopia Auger se discute en la Sección 21B-4. El tercer tipo de espectroscopia de electrones es la *espectroscopia fotoelectrónica ultravioleta* (UPS, ultraviolet photoelectron spectroscopy). Aquí, un haz monocromático de radiación ultravioleta produce la expulsión de electrones del analito. Este tipo de espectroscopia de electrones no es tan común como los otros dos y no se discutirá.

La espectroscopia de electrones es una herramienta poderosa para la identificación de todos los elementos de la tabla periódica con excepción del hidrógeno y del helio. Y lo que es aún más importante, el método permite la determinación del estado de oxidación de un elemento y de las especies a las que está unido. Finalmente, la técnica proporciona información valiosa sobre la estructura electrónica de las moléculas.

La espectroscopia de electrones se ha aplicado con éxito a gases y a sólidos y más recientemente a disoluciones y a líquidos. Sin embargo, debido al poco poder de penetración de los electrones estos métodos proporcionan tan sólo información sobre una capa superficial del sólido que tiene un grosor de unas pocas capas atómicas (20 a 50 Å). Normalmente, la composición de estas capas superficiales es significativamente diferente de la composición promedio de la totalidad de la muestra. De hecho, la aplicación más importante y valiosa de la espectroscopia de electrones es el análisis cualitativo de las superficies de sólidos como metales, aleaciones, semiconductores y catalizadores heterogéneos. El análisis cuantitativo por espectroscopia de electrones presenta aplicaciones limitadas.

on Analytical Chemistry, 2.^a ed., P. J. Elving, E. J. Meehan e I. M. Kolthoff, Eds., Parte I, Vol. 8, Capítulo 17. New York: Wiley, 1986.

⁵ Las referencias incluyen: *Electron Spectroscopy: Theory, Techniques, and Applications*, 4 vols, C. R. Brundle y A. D. Baker, Eds. New York: Academic Press, 1977-1981; P. K. Ghosh, *Introduction to Photoelectron Spectroscopy*. New York: Wiley, 1983; *Practical Surface Analysis by Auger and X-Ray Photoelectron Spectroscopy*, D. Briggs y M. P. Seah, Eds. New York: Wiley, 1983; G. Margaritondo y J. E. Rowe, en *Treatise*

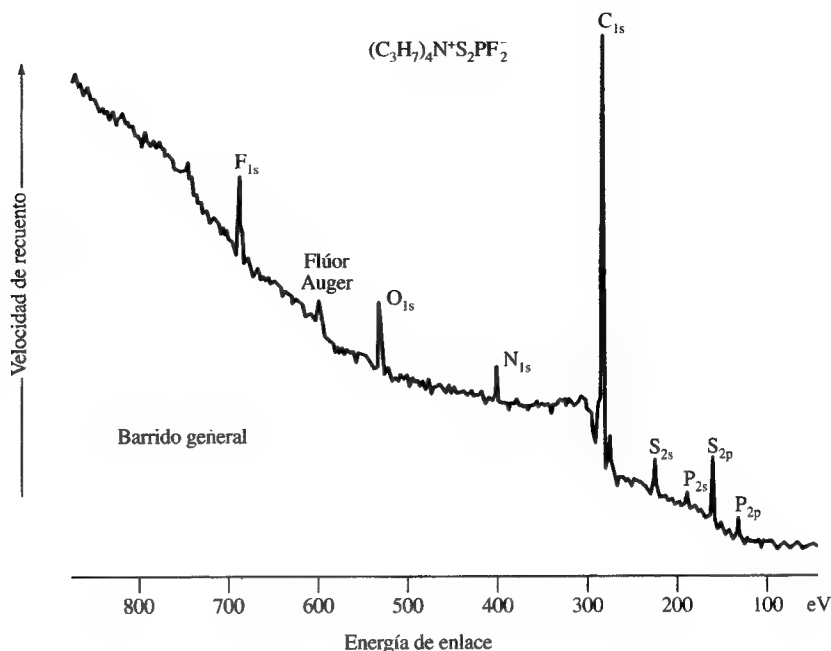


Figura 21-2. Espectro del difluorotiofosfato de tetrapropilamonio obtenido por espectrometría fotoelectrónica de rayos X. Los picos están señalados según el elemento y el orbital a partir del cual se han originado los electrones emitidos.

21B-3. Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X

Es importante resaltar la diferencia fundamental entre la espectroscopia de electrones y los otros tipos de espectroscopia estudiados hasta ahora. En espectroscopia de electrones se registra la energía cinética de los electrones emitidos. El espectro es, por tanto, una gráfica del número de electrones emitidos (o de la potencia del haz de electrones) en función de la energía (o de la frecuencia o de la longitud de onda) de los electrones emitidos (véase Figura 21-2).

Fundamentos de la XPS

La utilización de la XPS para análisis químico fue introducida por un físico sueco, K. Siegbahn, quien como consecuencia recibió el Premio Nobel en 1981 por su trabajo⁶. Siegbahn decidió llamar a esta técnica espectroscopia de electrones para análisis

químico (ESCA) para diferenciarla de los otros dos tipos de espectroscopias de electrones. La XPS no sólo da información acerca de la composición atómica de la muestra sino también sobre la estructura y el grado de oxidación de los compuestos que están siendo examinados. La Figura 21-3 muestra una representación esquemática del proceso físico implicado en la XPS, donde las tres líneas más bajas designadas por E_b , E'_b y E''_b , representan las energías de los electrones de las capas internas K y L de un átomo. Las tres líneas superiores representan algunos de los niveles de energía de los electrones de la capa más externa o de valencia. Como se muestra en la figura, uno de los fotones de un haz monocromático de rayos X de energía conocida $h\nu$ desplaza a un electrón e^- de un orbital K de energía E_b . La reacción se puede representar por



donde A puede ser un átomo, una molécula o un ion y A^{++} es un ion electrónicamente excitado con una carga positiva más que A.

La energía cinética del electrón emitido E_k se mide en un espectrómetro de electrones. La energía de enlace del electrón E_b se puede calcular mediante la ecuación

$$E_b = h\nu - E_k - w \quad (21-2)$$

⁶ Para monografías sobre XPS, véase K. Siegbahn y col., *ESCA: Atomic, Molecular and Solid State Structure by Means of Electron Spectroscopy*. Upsala: Olmquist y Wiksells, 1967 y *XPS Applied to Free Molecules*, Amsterdam: North-Holland Publishing Co., 1969; P. K. Ghosh, *Introduction to Photoelectron Spectroscopy*. New York: Wiley, 1983; T. L. Barr, *Modern XPS*. Boca Raton: CRC Press, 1994. Para una breve descripción de la historia del XPS, véase K. Siegbahn, *Science*, **1981**, 217, 111.

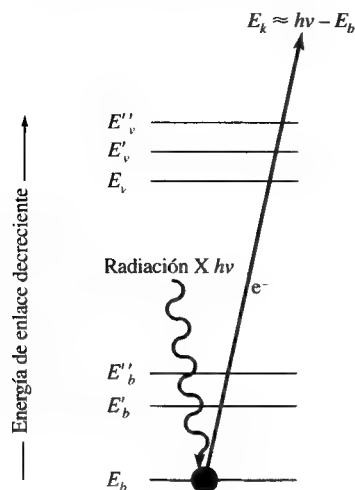


Figura 21-3. Esquema del proceso ESCA. El haz incidente está constituido por fotones de rayos X monoenergéticos. El haz emitido se compone de electrones.

En esta ecuación, w es la llamada *función de trabajo* del espectrómetro, un factor corrector del entorno electrostático en el cual el electrón se forma y se mide. Existen varios métodos para determinar el valor de w . La energía de enlace de un electrón es característica del átomo y del orbital en el que se encontraba el electrón que se ha emitido.

La Figura 21-2 muestra un espectro XPS de baja resolución que consiste en la representación de la velocidad de recuento de electrones en función de la energía de enlace E_b . El analito es un compuesto orgánico formado por seis elementos. Con la excepción del hidrógeno, se pueden observar picos bien separados para cada uno de los elementos. Además, está presente un pico para el oxígeno, lo que sugiere que ha tenido lugar alguna oxidación en la superficie del compuesto. Hay que señalar que, tal como se esperaba, las energías de enlace de los electrones $1s$ aumentan con el número atómico debido al aumento de carga positiva del núcleo. Obsérvese también que se puede observar más de un pico para un elemento dado; así, se pueden ver picos de los electrones $2s$ y $2p$ del azufre y del fósforo. El alto nivel de fondo que se observa se produce porque asociado a cada pico característico hay una cola debida a los electrones expulsados que han perdido parte de su energía en colisiones inelásticas dentro de la muestra sólida. Estos electrones tienen menos energía cinética que sus equivalentes no dispersados y por tanto aparecerán a energías cinéticas más bajas o a energías de enlace más altas (Ecuación 21-2). Es evidente a partir de

la Figura 21-2 que la XPS proporciona un medio para la identificación cualitativa de los elementos presentes en la superficie de los sólidos.

Instrumentación

Quizá una docena de casas comerciales ofrecen instrumentos para espectroscopia de electrones. Estos productos difieren considerablemente en los componentes, configuraciones y costos. Algunos están diseñados para un único tipo de aplicación tales como XPS mientras que otros pueden adaptarse para la espectroscopia Auger y espectroscopia fotoelectrónica ultravioleta para los cuales pueden adquirirse también los accesorios adecuados. Todos son caros (de 300.000 a 900.000 dólares)⁷.

Los espectrómetros de electrones se fabrican con componentes cuyas funciones son análogas a aquellos que se encuentran en espectroscopia óptica. Estos componentes son: (1) una fuente, (2) un dispositivo para contener la muestra, (3) un analizador que tiene la misma función que un monocromador, (4) un detector y (5) un procesador de señal y un dispositivo de lectura. La Figura 21-4 muestra una disposición típica de estos componentes. Los espectrómetros de electrones generalmente requieren sistemas de vacío elaborados para reducir la presión en todos los componentes entre 10^{-5} y 10^{-10} torr⁸.

Fuentes. Las fuentes de rayos-X más sencillas para los espectrómetros de XPS son tubos de rayos X equipadas con blancos de magnesio o aluminio que actúan como filtros adecuados. Las líneas K_α de estos dos elementos tienen unas anchuras de banda considerablemente más estrechas (de 0,8 a 0,9 eV) que las que se obtienen con blancos de número atómico superior; hay que señalar que las bandas estrechas son deseables puesto que proporcionan una resolución mejor.

Los instrumentos de XPS relativamente sofisticados, tal y como el que se muestra en la Figura 21-4 emplean un monocromador de cristal (Apartado 12B-3), para dar rayos X que tienen anchuras de banda inferiores a 0,3 eV. Los monocromadores eliminan la radiación de fondo, mejorando las rela-

⁷ Para una revisión útil de los desarrollos recientes en espectrómetros de electrones, véase J. A. Gardella Jr., *Anal. Chem.*, **1989**, 61, 589A.

⁸ Pueden encontrarse especificaciones de varios instrumentos comerciales representativos en D. Noble, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 675A.

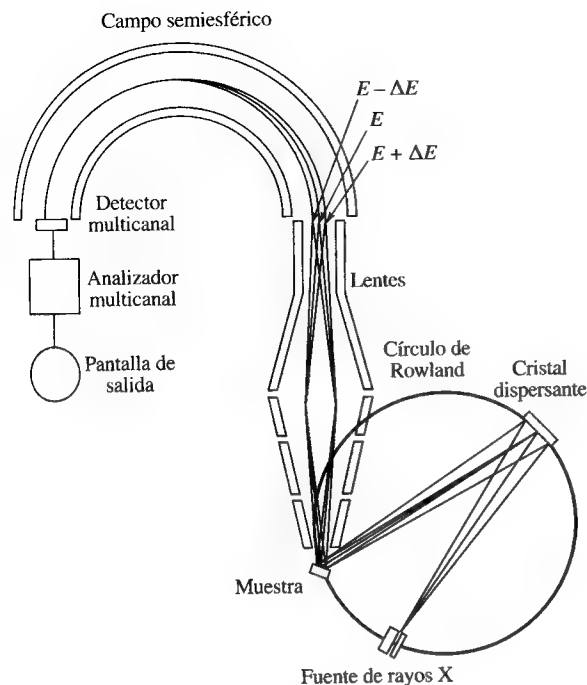


Figura 21-4. Principio de un instrumento moderno para ESCA (HP5950A) que emplea una fuente monocromática de rayos X y un espectrómetro de campo semiesférico.

ciones S/N , lo que permite examinar porciones de la superficie mucho más pequeñas.

Compartimento de la muestra. Las muestras sólidas se montan en una posición fija lo más cercana posible de la fuente de electrones o de fotones y de la rendija de entrada del espectrómetro (véase Figura 21-4). Con el objeto de evitar la atenuación del haz de electrones, el compartimento de muestra debe mantenerse al vacío, a una presión de 10^{-5} torr o incluso menor. Sin embargo, a menudo, se requieren vacíos mayores (de 10^{-9} a 10^{-10} torr) para evitar la contaminación de la superficie de la muestra por sustancias tales como el oxígeno o el agua que pueden reaccionar o adsorberse en la superficie.

Las muestras de gases se introducen en el área de la muestra a través de una rendija de un tamaño tal que pueda dar una presión de aproximadamente unos 10^{-2} torr. Presiones mayores provocan una atenuación excesiva del haz de electrones debido a colisiones inelásticas y, por otro lado, si la presión de la muestra es demasiado baja se obtienen señales muy débiles.

Analizadores. La mayoría de los espectrómetros de electrones son de tipo semiesférico, en los que

el haz de electrones es desviado por un campo magnético electrostático de tal manera que los electrones se mueven siguiendo una trayectoria curva (véase Fig. 21-4). El radio de curvatura depende de la energía cinética de los electrones y de la magnitud del campo. Variando el campo, se pueden focalizar en el detector los electrones de varias energías cinéticas.

Normalmente, las presiones en el analizador de un espectrómetro de electrones se mantienen por debajo de 10^{-5} torr.

Detectores. Los espectrómetros de electrones más modernos poseen canales multiplicadores de electrones de estado sólido, que consisten en tubos de vidrio que han sido dopados con plomo o vanadio. Al aplicar a estos materiales un potencial de varios kilovoltios se produce una cascada o pulso de 10^6 a 10^8 electrones por cada electrón incidente. Estos pulsos se cuentan a continuación electrónicamente. Varios fabricantes ofrecen actualmente detectores multicanal bidimensionales de electrones que son parecidos en construcción y aplicación a los detectores multicanal de fotones descritos en el Apartado 7E-3. En estos detectores, todos los factores que afectan a la resolución de un espectro de electrones se controlan simultáneamente y los resultados se almacenan en un ordenador para el subsiguiente tratamiento. Las ventajas de un sistema como éste son similares a las obtenidas con los detectores de fotones multicanal.

Aplicaciones de la XPS

La espectroscopia de electrones para el análisis químico proporciona información cualitativa y cuantitativa sobre la composición elemental de la materia, en particular de superficies de sólidos. También proporciona, a menudo, información estructural de gran utilidad⁹.

Análisis cualitativo. Un espectro XPS de amplio barrido y baja resolución (llamado a menudo un espectro general), tal como el que se muestra en la Figura 21-2, sirve como base para la determinación de la composición elemental de las muestras. Con una fuente K_{α} de magnesio o aluminio, todos los elementos excepto el hidrógeno y el helio emiten

⁹ Para revisiones de las aplicaciones de la XPS (y también del AES), véase N. H. Turner y J. A. Schreifels, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 309R; **1994**, 66, 163R; **1992**, 64, 302R; **1990**, 62, 113R; **1988**, 60, 377R.

TABLA 21-2. Desplazamientos químicos en función del estado de oxidación^a

Elemento ^b	Estado de oxidación									
	-2	-1	0	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7
Nitrógeno (1s)	—	*0 ^c	—	+4,5 ^d	—	+5,1	—	+8,0	—	—
Azufre (1s)	-2,0	—	*0	—	—	—	+4,5	—	+5,8	—
Cloro (2p)	—	*0	—	—	—	+3,8	—	+7,1	—	+9,5
Cobre (1s)	—	—	*0	+0,7	+4,4	—	—	—	—	—
Iodo (4s)	—	*0	—	—	—	—	—	+5,3	—	+6,5
Europio (3d)	—	—	—	—	*0	+9,6	—	—	—	—

^a Todos los desplazamientos están medidos en electronvoltios respecto a los estados de oxidación indicados por (*). (Reproducción autorizada de D. M. Hércules, *Anal Chem.*, 1970, 42, 28A, Copyright 1970 American Chemical Society.)

^b Los tipos de electrones aparecen entre paréntesis.

^c Cero arbitrario para las medidas, el nitrógeno final aparece en NaN_3 .

^d Nitrógeno medio en NaN_3 .

electrones internos que tienen energías de enlace características. Normalmente, un espectro general abarca un intervalo de energías cinéticas desde 250 a 1.500 eV, que corresponde a energías de enlace entre 0 y 1.250 eV. Cada elemento de la tabla periódica tiene uno o más niveles de energía que dan lugar a la aparición de picos en esta región. En muchos casos, los picos están bien resueltos y permiten identificaciones inequívocas, siempre y cuando el elemento esté presente en concentraciones superiores a un 0,1 por 100. Ocasionalmente se encuentran picos solapados como por ejemplo los $\text{O}1s/\text{Sb}3d$ o los $\text{Al}2s$, $2p/\text{Cu}3s$, $3p$. Los problemas debidos al solapamiento espectral se pueden resolver normalmente investigando otros picos adicionales en otras regiones espectrales. A menudo, los picos correspondientes a los electrones Auger se encuentran en los espectros XPS (véase, por ejemplo, el pico alrededor de 610 eV en la Fig. 21-2). Estos picos se identifican fácilmente comparando los espectros producidos por dos fuentes de rayos X (normalmente K_α de magnesio y aluminio). Los picos Auger permanecen inalterables sobre la escala de energía cinética, mientras que los picos fotoeléctricos se desplazan. La razón de tal comportamiento para los electrones Auger se explicará en el Apartado 21B-4.

Desplazamientos químicos y estados de oxidación. Cuando se examina uno de los picos de un espectro general en condiciones de elevada resolución de energía, se encuentra que la posición del máximo depende en un pequeño grado del entorno químico del átomo responsable del pico. Esto es,

las variaciones en el número de electrones de valencia y sus tipos de enlace tienen influencia sobre las energías de enlace de los electrones más internos. El efecto del número de electrones de valencia y por tanto del estado de oxidación se pone de manifiesto en los datos de varios elementos que se muestran en la Tabla 21-2. Hay que señalar que, en cada caso, las energías de enlace aumentan a medida que el estado de oxidación se hace más positivo. Este *desplazamiento químico* se puede explicar suponiendo que la atracción del núcleo para un electrón interno disminuye por la presencia de electrones externos. Cuando uno de estos electrones es expulsado, la carga efectiva que afecta a los electrones internos aumenta, de modo que la energía de enlace aumenta.

Una de las aplicaciones más importantes del XPS es la identificación de los estados de oxidación de los elementos contenidos en diversos tipos de compuestos orgánicos.

Desplazamientos químicos y estructura. La Figura 21-5 ilustra el efecto de la estructura sobre la posición de los picos de un elemento. Cada pico corresponde al electrón 1s del átomo de carbono que se halla situado justo encima en la fórmula estructural de la figura. En este caso, el desplazamiento en las energías de enlace puede ordenarse teniendo en cuenta el efecto de los diversos grupos funcionales sobre la carga nuclear efectiva que afecta al electrón 1s interno. Por ejemplo, de todos los grupos unidos, los átomos de flúor tienen una mayor capacidad para atraer la densidad de carga

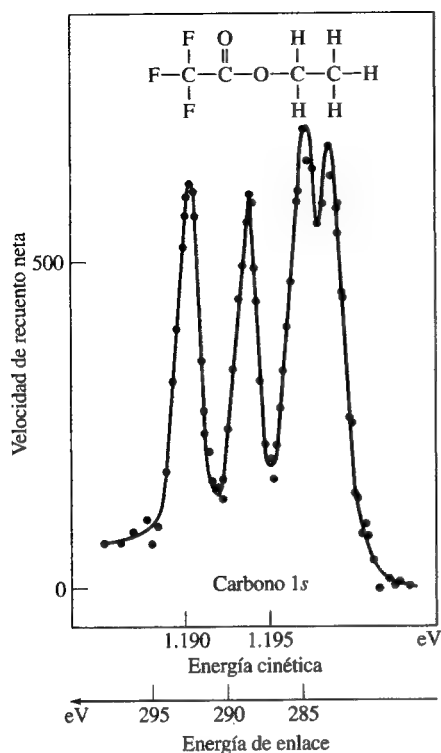


Figura 21-5. Espectro correspondiente a los electrones 1s del carbono del trifluoroacetato de etilo obtenido por espectrometría fotoelectrónica de rayos X. (Reproducción autorizada de K. Siegbahn, y col., ESCA: Atomic, Molecular, and Solid-State Studies by Means of Electron Spectroscopy, pág. 21. Upsala: Almquist & Wiksells, 1967.)

electrónica del átomo de carbono. La carga nuclear efectiva experimentada por el electrón 1s del carbono es por tanto máxima, como lo es la energía de enlace.

La Figura 21-6 indica la posición de los picos para el azufre en sus diversos estados de oxidación y en varios tipos de compuestos orgánicos. Los datos de la fila superior demuestran claramente el efecto del estado de oxidación. Obsérvese también en las cuatro últimas filas del cuadro que la XPS es capaz de discriminar entre dos átomos de azufre contenidos en un único ion o molécula. Así, los dos picos que se observan para el ion tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$), sugieren diferentes estados de oxidación para los dos átomos de azufre que contiene.

Los espectros XPS proporcionan no sólo información cualitativa sobre los tipos de átomos presentes en un compuesto, sino también sobre el número relativo de cada tipo. Por ejemplo, el espectro 1s del nitrógeno para la azida sódica (Na^+N_3^-) está compuesto de dos picos que tienen unas áreas rela-

tivas en la proporción 2:1 y que corresponden a los dos nitrógenos terminales y al nitrógeno del centro respectivamente.

Es importante señalar de nuevo, que los fotoelectrones producidos en XPS son incapaces de pasar a través de más de 10 a 50 Å de un sólido. Por tanto, las aplicaciones más importantes de la espectroscopia de electrones, al igual que de la espectroscopia de microsonda de rayos X, son la obtención de información sobre las superficies. Ejemplos de algunas de estas utilizaciones incluyen la identificación de los sitios activos y de las anomalías de las superficies catalíticas, la determinación de contaminantes en las superficies de los semiconductores, el análisis de la composición de la piel humana y el estudio de las capas superficiales de óxido en metales y aleaciones.

Es también evidente que el método tiene un gran potencial en la elucidación de la estructura química (véanse Figs. 21-5 y 21-6); la información suministrada es comparable a la obtenida a partir de la espectroscopia de RMN o de infrarrojo. Una cualidad a resaltar de la XPS es su capacidad para distinguir entre los estados de oxidación de un elemento.

Es interesante señalar que la información que se obtiene con XPS también debe estar presente en las discontinuidades de absorción de un espectro de absorción de rayos X de un compuesto. Sin embargo, la mayoría de los espectrómetros de rayos X no tienen suficiente resolución como para proporcionar fácilmente esta información estructural.

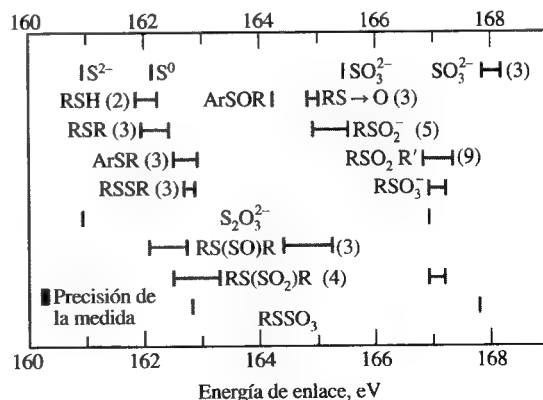


Figura 21-6. Cuadro de correlación para las energías de enlace de los electrones 2s del azufre. Los números entre paréntesis indican el número de compuestos examinados. (Reproducción autorizada de D. M. Hercules, Anal. Chem., 1970, 42(1), 35A. Copyright 1970 American Chemical Society.)

Aplicaciones cuantitativas. A pesar de que diferentes autores han publicado la utilidad de la XPS para la determinación cuantitativa de la composición elemental de varios materiales inorgánicos y orgánicos, el método no goza de amplia aplicación para este fin¹⁰. De hecho, tanto las intensidades de pico como las áreas de los picos se han utilizado como parámetros analíticos y se ha establecido empíricamente la relación entre estas cantidades y la concentración. A menudo, se recomiendan patrones internos y las precisiones relativas son del orden del 3 al 10 por 100. Para el análisis de sólidos y líquidos, es necesario suponer que la composición de la superficie de la muestra es la misma que la del volumen total de la muestra y en muchas aplicaciones, esta suposición da lugar a errores significativos.

21B-4. Espectroscopia de electrones Auger¹¹

A diferencia de la XPS, la espectroscopia de electrones Auger se basa en un proceso en dos etapas en el que la primera etapa implica la formación de un ion A^{+*} excitado electrónicamente por exposición del analito a un haz de electrones o algunas veces de rayos X. Con rayos X, tiene lugar la reacción que muestra la Ecuación 21-1 y para un haz de electrones, la reacción de excitación se puede escribir

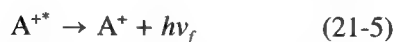


donde e_i^- representa un electrón incidente de la fuente, $e_i'^-$ representa el mismo electrón después de haber interactuado con A, de modo que pierde parte de su energía y e_A^- representa un electrón que es expulsado de uno de los orbitales internos de A.

Tal como se muestra en las Figuras 21-7a y 21-7b, la relajación del ion excitado A^{+*} puede tener lugar por dos vías; que son:



o



Donde e_A^- corresponde a un electrón Auger y $h\nu_f$ representa un fotón fluorescente.

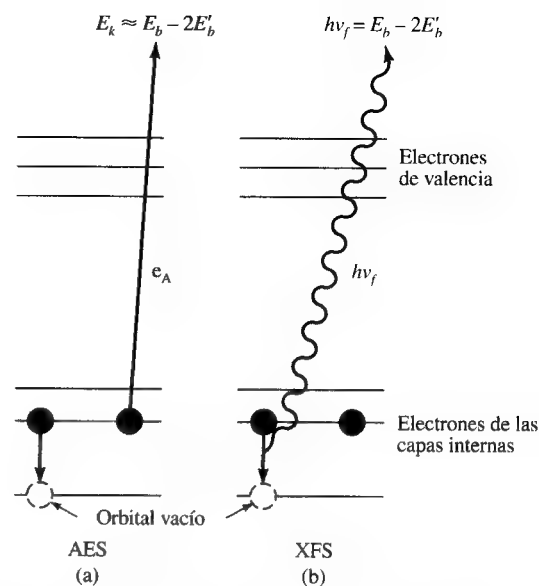


Figura 21-7. Esquema del origen de: (a) la emisión de electrones Auger y (b) la fluorescencia de rayos X, que compete con la emisión Auger.

Al proceso de relajación descrito por la Ecuación 21-5 se le conoce como fluorescencia de rayos X y se ha estudiado en el capítulo anterior. Hay que señalar que la energía de la radiación fluorescente $h\nu_f$ es independiente de la energía de excitación y, por tanto, se puede utilizar radiación policromática para la etapa de excitación. La emisión Auger, descrita por la Ecuación 21-4, es un proceso en el que la energía cedida en la relajación produce la expulsión de un electrón (un electrón Auger e_A^-) con una energía cinética E_k . Hay que señalar que la energía del electrón Auger es *independiente* de la energía del fotón o del electrón que originalmente crea la vacante en el nivel de energía E_b , por lo que, como ocurre en espectroscopia de fluorescencia, *no* se requiere una fuente de excitación monoenergética para la excitación. Téngase en cuenta que esta independencia de los picos Auger con respecto a la energía de excitación es lo que hace posible a los químicos distinguir en el espectro los picos Auger de los picos XPS.

La energía cinética del electrón Auger es la diferencia entre la energía liberada en la relajación del ion excitado ($E_b - E_b'$) y la energía necesaria para hacer salir el segundo electrón de su órbita (E_b'). Así,

$$E_k = (E_b - E_b') - E_b' = E_b - 2E_b' \quad (21-6)$$

¹⁰ Para una revisión de las aplicaciones cuantitativas de la espectroscopia XPS y Auger, véase K. W. Nebesny, B. L. Maschhoff y N. R. Armstrong, *Anal. Chem.*, **1989**, 61, 469A.

¹¹ Véase M. Thompson, M. D. Baker, A. Christie y J. F. Tyson, *Auger Electron Spectroscopy*, New York: Wiley, 1985.

Las emisiones Auger se describen en función del tipo de transiciones orbitales implicadas en la producción del electrón. Por ejemplo, una transición Auger KLL implica la separación inicial de un electrón K seguida de una transición de un electrón L al orbital K con la expulsión simultánea de un segundo electrón L. Otras transiciones comunes son la LMM y la MNN.

Análogamente a los espectros XPS, los espectros Auger consisten en unos pocos picos característicos en la región de 20 a 1.000 eV. La Figura 21-8 muestra unos espectros Auger típicos obtenidos para dos muestras de una aleación de 70 por 100 de cobre y 30 por 100 de níquel. Obsérvese que la derivada de la velocidad de recuento en función de la energía cinética del electrón $dN(E)/dE$ se utiliza como ordenada. Los espectros derivados son corrientes en espectroscopia Auger y tienen como objetivo exaltar los picos pequeños y disminuir el efecto de la gran, aunque lentamente variable radiación de fondo de los electrones dispersados. También hay que señalar que los picos están bien separados, lo que hace muy fácil la identificación cualitativa.

La emisión de electrones Auger y la fluorescencia de rayos X (Fig. 21-7) son procesos competitivos y sus velocidades relativas dependen del número atómico del elemento implicado. Los números atómicos elevados favorecen la fluorescencia, mientras que la emisión Auger predomina con átomos de números atómicos bajos. Como consecuencia, la fluorescencia de rayos X no es un medio muy sensible de detección de elementos con números atómicos inferiores a aproximadamente 10.

La espectroscopia fotoelectrónica de rayos X y la Auger proporcionan información semejante acerca de la composición del material. Ambos métodos tienden a ser complementarios mas que competitivos, sin embargo la espectroscopia Auger resulta más fiable y eficaz para ciertas aplicaciones y la XPS para otras. Como se ha mencionado ya anteriormente, la mayoría de los fabricantes de estos instrumentos reconocen la naturaleza complementaria de la XPS y la Auger proporcionando dispositivos para ambos tipos de medidas con un único instrumento.

Las ventajas particulares de la espectroscopia Auger son su sensibilidad para átomos de bajo nú-

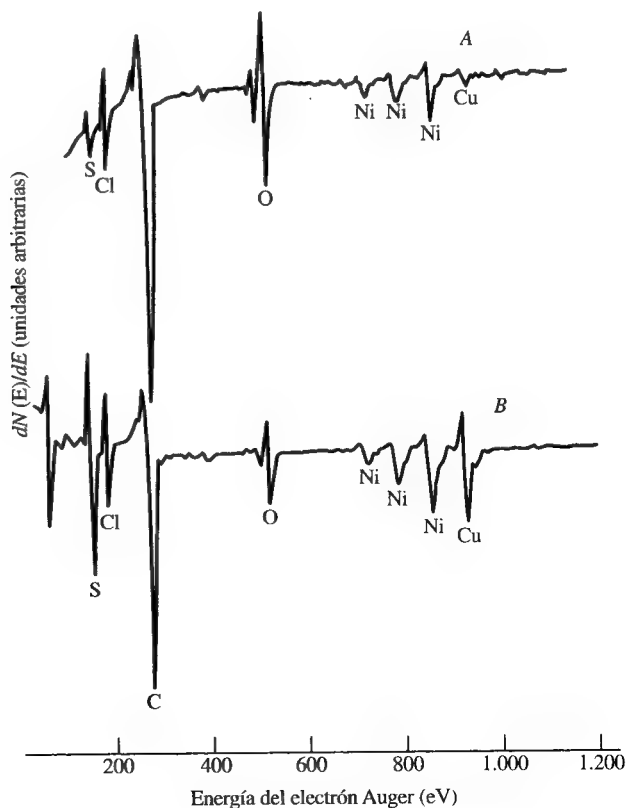


Figura 21-8. Espectros de electrones Auger de una aleación con 70 por 100 Cu/30 por 100 Ni; A, pasivado por oxidación anódica; B, no pasivado. (Adaptado de G. E. McGuire, y col., *J. Electrochem. Soc.*, 1978, 125, 1802. Reproducido con permiso del editor, *The Electrochemical Society, Inc.*)

mero atómico y sus mínimos efectos de matriz, y sobre todo su elevada resolución espacial que permite el examen detallado de las superficies sólidas. La resolución espacial surge como consecuencia de que el haz primario de los electrones puede focalizarse en una zona más estrecha de la superficie que lo que puede hacerse con los rayos X. Hasta este momento, la espectroscopia Auger no ha sido tan ampliamente utilizada para obtener información estructural y sobre el estado de oxidación como lo que se ha descrito para la XPS. Los análisis cuantitativos por esta técnica son también difíciles.

Instrumentación

Los instrumentos que se utilizan en AES son similares a los de XPS excepto en que la fuente es un *cañón de electrones* en vez de un tubo de rayos X. En la Figura 21-9 se muestra un diagrama esquemático de un cañón de electrones del tipo más común. Esta fuente consta de un filamento de wolframio caliente que normalmente tiene un diámetro de 0,1 mm y que se dobla hacia dentro para darle la forma de una horquilla con forma de V en la punta. El filamento catódico se mantiene a un potencial entre 1 y 50 kV con respecto al ánodo en el interior del cañón de electrones. Rodeando al filamento está una rejilla o *cilindro de Wehnelt*, que está polarizada negativamente con respecto al filamento. En el cañón de electrones, el efecto del campo eléctrico provoca la emisión de electrones que convergen en una zona minúscula llamada *punto de cruce* y que tiene un diámetro d_0 .

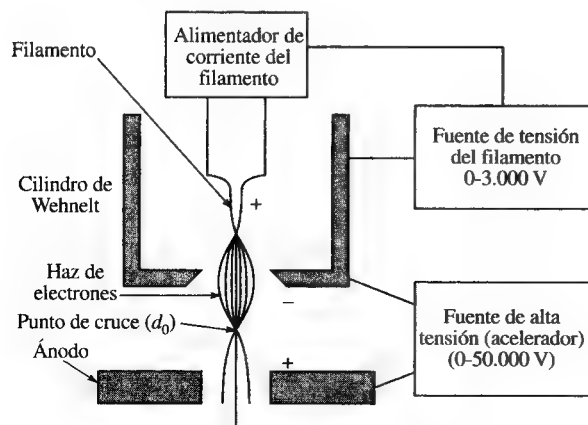


Figura 21-9. Diagrama de bloques de una fuente de filamento de wolframio.

Los cátodos, que se utilizan también en los cañones de electrones cuando se desea un haz de mayor brillo, se construyen en forma de varillas de hexaboruro de lantano (LaB_6). Este tipo de dispositivo es caro y necesita un sistema de vacío mejor para evitar la formación de óxidos que causaría un rápido deterioro de la eficacia del haz. Un tercer tipo de fuente se fundamenta en un proceso llamado *emisión de campo*. En este caso la fuente es un cátodo de wolframio o carbono con una forma de punta muy aguda (100 nm o menos). Cuando este tipo de cátodo soporta un potencial elevado, el campo eléctrico en la punta es tan intenso ($>10^7$ V/cm) que los electrones se originan por un «proceso túnel» en el que no se requiere energía térmica para liberar a los electrones de la barrera de potencial que normalmente evita su emisión. Las fuentes de campo de emisión proporcionan un haz de electrones que tiene un diámetro de punto de cruce de sólo 10 nm comparados con los 10 μm que proporcionan los cilindros de LaB_6 y los 50 μm para las horquillas de wolframio. Las desventajas de esta fuente son su fragilidad y el hecho de que también requiere un vacío mejor que el que es necesario para una fuente de filamento ordinario.

Los cañones de electrones producen un haz de electrones con energías de 1 a 10 keV, que se pueden enfocar sobre la superficie de una muestra y se emplean para estudios de electrones Auger. Una de las extraordinarias ventajas de la espectroscopia Auger es su capacidad para efectuar barridos de superficies de sólidos con una elevada resolución espacial. Normalmente, los haces de electrones con diámetros que varían entre 500 y 5 μm se utilizan para este fin. Los cañones que producen haces de aproximadamente 5 μm se llaman *microsondas Auger* y se utilizan para examinar superficies sólidas con el objeto de detectar y determinar la composición elemental de las heterogeneidades.

Aplicaciones de la espectroscopia de electrones Auger

Análisis cualitativo de superficies de sólidos. Normalmente, un espectro Auger se obtiene bombardeando un área pequeña de una superficie (diámetro, de 5 a 500 μm) con el haz de electrones de un cañón. Se obtiene entonces con un analizador un espectro de electrones derivado, tal como se ve en la Figura 21-8. Una ventaja de la espectroscopia Auger para los estudios de superficies es que la baja energía de los electrones Auger (de 20 a 1.000 eV)

permite penetrar tan sólo unas pocas capas de átomos (de 3 a 20 Å) del sólido. Así, mientras que los electrones de los cañones de electrones penetran hasta una gran profundidad por debajo de la superficie de la muestra, sólo los electrones Auger de las cuatro o cinco primeras capas atómicas se escapan hasta alcanzar el analizador. Por tanto, un espectro Auger refleja probablemente la verdadera composición de la *superficie* de los sólidos.

Los dos espectros Auger de la Figura 21-8 son de muestras de una aleación con un 70 por 100 de cobre y con un 30 por 100 de níquel, que a menudo se utiliza para estructuras en las que se requiere una gran resistencia a la corrosión por agua salada. La resistencia a la corrosión de esta aleación aumenta apreciablemente por una oxidación anódica preliminar en una solución concentrada de cloruro. El espectro A de la Figura 21-8 corresponde a una superficie de aleación que ha sido *pasivada* de esta manera. El espectro B corresponde a otra muestra de la aleación en la que el potencial anódico de la oxidación no fue lo suficientemente grande como para provocar una pasivación significativa. Los dos espectros revelan claramente las diferencias químicas entre las dos muestras y explican la mayor resistencia a la corrosión de la primera. En primer lugar, la relación entre el cobre y el níquel en la capa superficial de la muestra no pasivada es aproximadamente la del interior, mientras que en el material pasivado, los picos del níquel eclipsan totalmente el pico del cobre. Además, la relación oxígeno-níquel en la capa superficial de la muestra pasivada se aproxima a la del níquel puro anodizado, que tiene también una elevada resistencia a la corrosión. Por tanto, la resistencia de la aleación frente a la corrosión parece ser debida a la creación de una superficie que contiene mayoritariamente óxido de níquel. La ventaja de la aleación sobre el níquel puro es su costo significativamente más bajo.

Perfil de profundidad de superficies. El perfil de profundidad implica la determinación de la composición elemental de una superficie cuando está siendo erosionada (*sputtered*) por un haz de iones argón. Tanto la espectroscopia XPS como la Auger pueden ser utilizadas para la detección elemental, a pesar de que la última es la más común. La Figura 21-10 muestra esquemáticamente cómo se lleva a cabo el proceso con un haz de electrones muy bien enfocado llamado microsonda Auger; el diámetro del haz de la microsonda es de alrededor de 5 μm . El haz de la microsonda y el haz que ero-

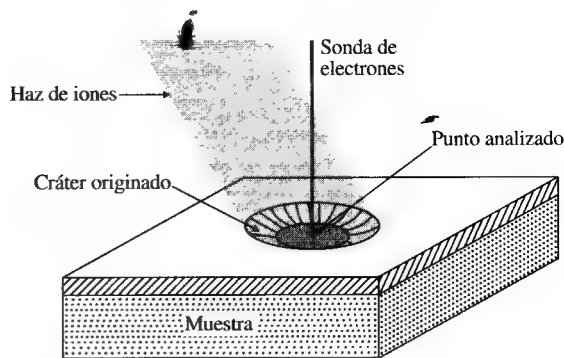


Figura 21-10. Representación esquemática de la utilización simultánea de la erosión por bombardeo de iones y de la espectroscopia Auger para la determinación de perfiles de profundidad.

siona operan simultáneamente, registrándose la intensidad de los picos Auger resultantes en función del tiempo. Debido a que la velocidad de erosión está relacionada con el tiempo, se obtiene un perfil en profundidad de la composición elemental. Esta información es de vital importancia en una gran variedad de estudios como son la química de la corrosión, el comportamiento catalítico y las propiedades de las uniones de los semiconductores.

La Figura 21-11 muestra un perfil en profundidad para la aleación de cobre/níquel descrita en el apartado anterior (Fig. 21-8). La relación de las intensidades de pico para el cobre frente a las del níquel se registran en función del tiempo de bombardeo (*sputtering*). La curva A es el perfil para la muestra que ha sido pasivada por oxidación anódica. En esta muestra, la relación cobre/níquel es prácticamente cero durante los diez primeros minutos de la erosión (*sputtering*), lo que corresponde a una profundidad de alrededor de 500 Å. La relación entonces aumenta y se aproxima a la de una muestra de aleación que ha sido químicamente erosionada hasta que su superficie es aproximadamente la del interior de la muestra (curva C). El perfil para la muestra no pasivada (curva B) se parece a la de la muestra químicamente erosionada, a pesar de que parece observarse la existencia de una capa delgada de óxido de níquel.

Barrido de líneas. Los barridos de líneas se utilizan para caracterizar la composición superficial de sólidos como una función de la distancia a lo largo de una línea recta de 100 μm o más. Con este objetivo, se utiliza una microsonda Auger que produce un haz que puede moverse a través de una superficie con una trayectoria reproducible. La Figura 21-12 muestra barridos de líneas Auger a lo largo de la

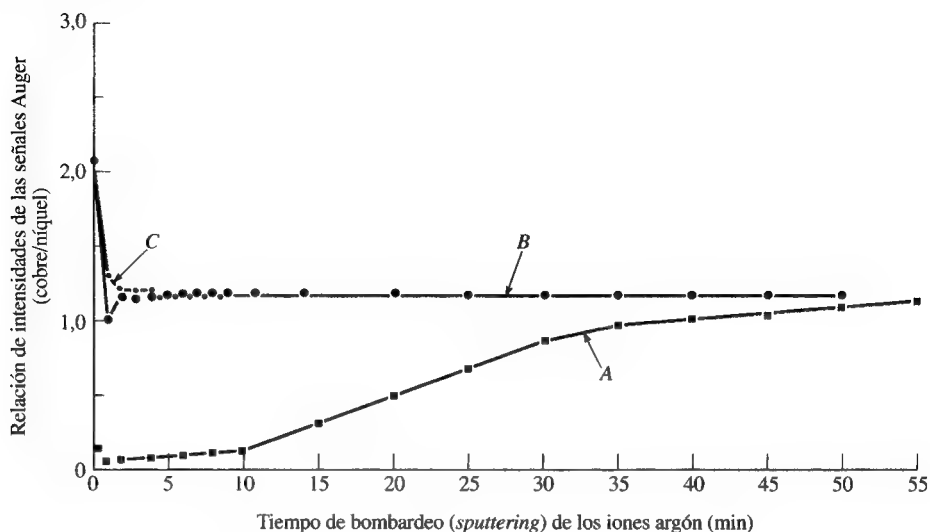


Figura 21-11. Perfiles de profundidad de la erosión por bombardeo Auger para las aleaciones de cobre/níquel mostradas en la Figura 21-8; A, muestra pasivada; B, muestra no pasivada; C, muestra erosionada químicamente y que representa el conjunto (volumen) del material. (Adaptada de G. E. McGuire, y col., J. Electrochem. Soc., 1978, 125, 1802. Reproducida con permiso del editor, The Electrochemical Society, Inc.)

superficie de un dispositivo semiconductor. En la figura de arriba, la amplitud de pico relativa de un pico del oxígeno se registra en función de la distancia a lo largo de la línea; la figura de abajo corresponde al mismo barrido cuando el analizador se coloca para detectar un pico del oro.

21B-5. Espectrometría de masas de ion secundario

La espectrometría de masas de ion secundario (SIMS) es el más desarrollado de los métodos de espectrometría de masas aplicados al análisis de superficies; distintos fabricantes ofrecen instrumentos para esta técnica. SIMS ha demostrado su utilidad para la determinación de la composición tanto atómica como molecular de superficies de sólidos¹².

Se pueden encontrar dos tipos de instrumentos: *analizadores de masas de ion secundario* y *analizadores de microsonda*. Ambos se basan en el bombardeo de la superficie de la muestra con un haz de iones de 5 a 20 keV de iones como Ar^+ , Cs^+ , N_2^+ u O_2^+ . El haz de iones se forma en un *cañón de*

iones en el que los átomos o moléculas gaseosas se ionizan por acción de una fuente de impacto de electrones. Los iones positivos se aceleran por aplicación de un potencial elevado. El impacto de estos iones primarios con los átomos de la capa superficial de la muestra provoca la expulsión (*sputtering*) de estos, en su mayoría como átomos neutros. Sin embargo, una pequeña fracción forma iones secundarios positivos o negativos que se desvían hacia el espectrómetro de masas para su análisis.

En los analizadores de masas de ion secundario, que sirven para el análisis de la superficie en general y para la obtención del perfil de profundidad, el haz de iones primarios tiene un diámetro que varía de 0,3 a 5 mm. Para las determinaciones se utilizan tanto analizadores de doble enfoque, de único enfoque, de tiempo de vuelo y cuadrupolares. Estos espectrómetros proporcionan información tanto cualitativa como cuantitativa aproximadamente de todos los isótopos (desde el hidrógeno hasta el uranio) que estén presentes en la superficie. Son características sensibilidades de 10^{-15} g o mejores. Controlado los picos de uno o unos pocos isótopos en función del tiempo se pueden obtener los perfiles de concentración con una resolución de profundidad de 50 a 100 Å.

Los analizadores de microsonda de iones son instrumentos más sofisticados (y más caros), se basan en el enfoque de un haz primario de iones que tiene un diámetro de 1 a 2 μm . Este haz puede des-

¹² A. Benninghoven, F. G. Rudenauer y H. W. Werner, *Secondary Ion Mass Spectrometry: Basic Concepts, Instrumental Aspects and Applications and Trends*. New York, Wiley, 1987. W. H. Christie, *Anal. Chem.*, 1981, 53, 1240A.

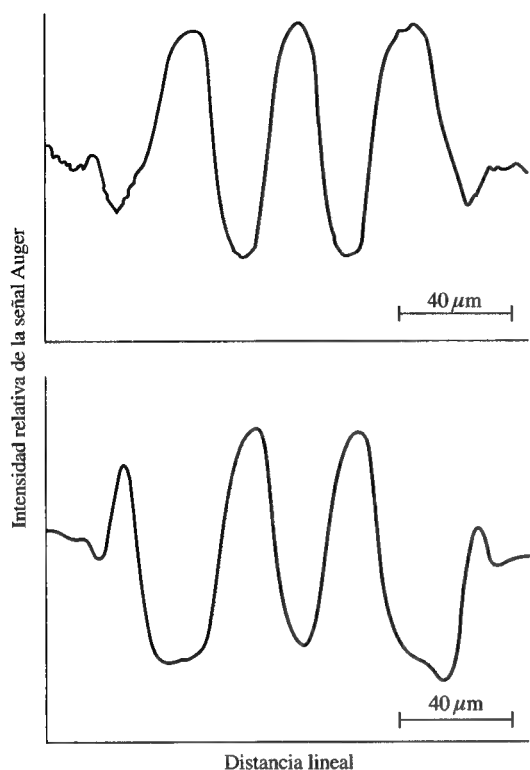


Figura 21-12. Barridos de líneas Auger para el oxígeno (arriba) y para el oro (abajo) obtenidos en la superficie de un semiconductor. (Cortesía de Physical Electronics Industries, Inc., Eden Prairie, MN.)

plazarse a través de una superficie de $300\ \mu\text{m}$ aproximadamente en ambas direcciones x e y . Un microscopio adicional permite el ajuste visual de la posición del haz. El espectro de masas se obtiene con un espectrómetro de doble enfoque. En algunos instrumentos, el haz de ion primario pasa a través de un espectrómetro de masas de baja resolución adicional de tal forma que un único tipo de ion primario es el que bombardea la muestra. La modalidad de microsonda de iones de la SIMS permite realizar estudios detallados de superficies de sólidos.

21B-6. Espectrometría de masas con microsonda de láser

Actualmente están comercializados espectrómetros de masas con microsonda de láser para el estudio de superficies de sólidos. La ionización y volatilización se llevan a cabo mediante un láser pulsante de neodimio-YAG que origina un haz de $0,5\ \mu\text{m}$ de diámetro después de cuatuplicar la fre-

cuencia de la radiación de $266\ \text{nm}$. La densidad de potencia de la radiación dentro de esta área es de 10^{10} a $10^{11}\ \text{W}/\text{cm}^2$. La potencia del haz puede atenuarse a un 1 por 100 por medio de un filtro óptico de 25 pasos. Colineal con el haz de ionización está un segundo haz de baja potencia, un láser de He-Ne ($\lambda = 663\ \text{nm}$) que sirve para que pueda elegirse visualmente el área que va a analizarse. El instrumento tiene una elevada sensibilidad poco frecuente (por debajo de $10^{-20}\ \text{g}$) que lo hace aplicable tanto al análisis de muestras inorgánicas como orgánicas (incluyendo muestras biológicas), tiene una resolución espacial de aproximadamente $1\ \mu\text{m}$ y proporciona los datos a gran velocidad. Algunas aplicaciones características de este instrumento incluyen la determinación de la relación de concentraciones de Na/K en la fibra nerviosa de la rana, determinación de la distribución de calcio en la retina, clasificación de los asbestos y del polvo de las minas de carbón, determinación de la distribución del fluoruro en el tejido óseo dental, análisis de aminoácidos y estudio de superficies de polímeros¹³.

21B-7. Microsonda de electrones

Con la microsonda de electrones se estimula la emisión de rayos X mediante el enfoque de un haz estrecho de electrones sobre la superficie de la muestra. La emisión de los rayos X así originados se detecta y analiza bien con un espectrómetro dispersivo de longitudes de onda o de energías¹⁴.

Instrumentos

La Figura 21-13 es un esquema de un sistema de microsonda de electrones. El instrumento emplea tres haces de radiación integrados, que son electrones, luz y rayos X. Además es necesario un sistema de vacío que proporcione una presión inferior a 10^{-5} torr y un espectrómetro de rayos X dispersivo de longitudes de onda o de energías (en la Fig. 21-13

¹³ Para más detalles, véase L. Van Vaeck y R. Gijbels, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1990**, 337, 743, 755; E. Denoyer, R. Van Grieken, F. Adams y D. F. S. Natusch, *Anal. Chem.*, **1982**, 54, 26A, 280A; R. J. Cotter, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, 485A.

¹⁴ Para una discusión más detallada, véase L. S. Birks, *Electron Probe Microanalysis*, 2.^a ed, New York: Wiley Interscience, 1971; K. F. J. Heinrich, *Electron Beam X-Ray Microanalysis*, New York: Van Nostrand, 1981. Para una revisión reciente del uso de la microsonda de barrido de electrones para análisis elemental de superficies, véase D. E. Newbury y col., *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 1159A, 1245A.

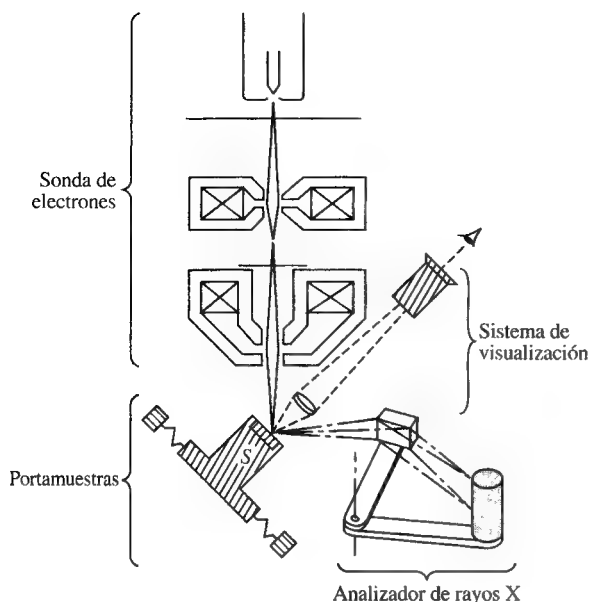


Figura 21-13. Vista esquemática de un instrumento de microsonda de electrones.

se muestra un sistema dispersivo de longitudes de onda). El haz de electrones se origina por calentamiento de un cátodo de wolframio y aceleración hacia el ánodo (no mostrado). Dos lentes electromagnéticas enfocan el haz sobre la muestra, el diámetro del haz está comprendido entre 0,1 y 1 μm . Se utiliza un microscopio óptico adicional para localizar el área que se bombardea. La fluorescencia de rayos X originada por el haz colimado de electrones se dispersa por un monocristal y finalmente se detecta por un detector de gases. Es necesario un esfuerzo considerable para diseñar la disposición espacial de los tres haces de tal manera que no interfieran unos con otros.

Además de los componentes anteriores, el portamuestras está provisto de un mecanismo por el cual la muestra puede desplazarse en dos direcciones perpendicularmente entre sí y rotarse también, permitiendo así el barrido de la superficie.

Aplicaciones

La microsonda de electrones proporciona una información abundante sobre la naturaleza física y química de las superficies. Tiene aplicaciones muy importantes en estudios de fase en metalurgia y cerámica, en la investigación de bordes de grano en aleaciones, en la medida de las velocidades de difusión de impurezas de semiconductores, en la de-

terminación de especies ocluidas en cristales y en el estudio de los sitios activos en catalizadores heterogéneos. En todas estas aplicaciones se obtiene información tanto cualitativa como cuantitativa sobre las superficies.

La Figura 21-14 muestra el uso de la microsonda de electrones para el análisis de una partícula de α -cohenita (Fe_3C) en una roca lunar. Los datos se obtuvieron mediante un barrido lineal de la partícula observando visualmente la superficie y midiendo la intensidad de la línea de emisión característica para cada uno de los cuatro elementos.

21C. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

En muchos campos de la química, de las ciencias de los materiales, de la geología y de la biología, es cada vez de más importancia el conocimiento detallado de la naturaleza física de las superficies de los sólidos. El método clásico para obtener tal información fue la microscopia óptica que todavía es

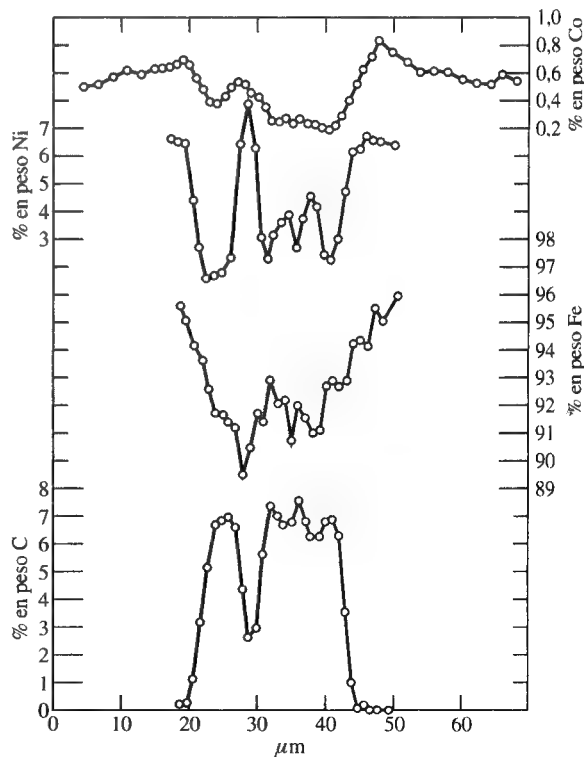


Figura 21-14. Resultados obtenidos mediante una microsonda de barrido de electrones en el estudio de la superficie de una partícula de α -cohenita procedente de una roca lunar.

una técnica importante para la caracterización de superficies. Sin embargo, la resolución de la microscopia óptica está limitada por los efectos de difracción de la longitud de onda de orden similar a la de la luz. Normalmente, la información se obtiene sobre las superficies con una resolución, considerablemente elevada, mediante tres técnicas, la *microscopia electrónica de barrido* (SEM), *microscopia de barrido de efecto túnel* (STM) *microscopia de fuerzas atómicas* (AFM). En ciertas ocasiones a los dos últimos métodos se les agrupa bajo la denominación *microscopia de sonda de barrido* (SPM). Este apartado trata la microscopia electrónica de barrido y los dos apartados siguientes se dedican a la microscopia de sonda de barrido.

Para obtener una imagen por cada una de estas técnicas la superficie de la muestra sólida se barre mediante un *rastreo programado* (*raster pattern*) con un haz de electrones muy fino focalizado o con una sonda adecuada. El rastreo programado es similar al utilizado en un tubo de rayos catódicos o en un aparato de televisión, en el que un haz de electrones (1) barre la superficie en línea recta (dirección x), (2) vuelve a la posición inicial y (3) es desplazado hacia abajo (dirección y) un incremento establecido. Este proceso se repite hasta que el área deseada de la superficie ha sido barrida. Durante este proceso de barrido se recibe una señal por encima de la superficie (dirección z) y se almacena en un sistema computarizado donde posteriormente se convierte en una imagen.

21C-1. El microscopio electrónico de barrido (SEM)¹⁵

En un microscopio electrónico de barrido se barre mediante un rastreo programado la superficie del sólido con un haz de electrones de energía elevada y como consecuencia de ello se producen en la superficie diversos tipos de señales. Estas señales incluyen electrones retrodispersados, secundarios y Auger; fotones debidos a la fluorescencia de rayos X y otros fotones de diversas energías. Todas estas señales se han utilizado en estudios de superficies, pero las más usuales son las que corresponden a: (1) electrones retrodispersados y secundarios, en

los que se fundamenta el microscopio de barrido de electrones y (2) la emisión de rayos X, que se utiliza en el análisis con microsonda de electrones.

Instrumentación

La Figura 21-15 muestra el esquema de un instrumento combinado que es a la vez un microscopio electrónico de barrido y una microsonda electrónica de barrido. Obsérvese que se utiliza un cañón de electrones y un sistema de focalización de electrones pero mientras que el microscopio utiliza un detector de electrones, la microsonda utiliza un detector de rayos X como el descrito en el Apartado 12B-4

Ópticas para electrones. Como se muestra en la Figura 21-15 los sistemas de lentes de condensador magnético y objetivo sirven para reducir la imagen en la zona de paso a un tamaño final de un haz sobre la muestra de 5 a 200 nm. El sistema de lentes condensadoras, que puede constar de una o más lentes, es el responsable de que el haz de electrones llegue a las lentes objetivo y éstas determinan el tamaño del haz de electrones que incide sobre la superficie de la muestra. Una lente particular característica es cilíndrica y simétrica con una altura entre 10 y 15 cm. Los detalles de la óptica de un sistema de lentes magnético están fuera del alcance de este texto.

Con un SEM el barrido se lleva a cabo mediante los dos pares de bobinas localizadas entre las lentes objetivo (véase Fig. 21-15); uno de los pares desvía el haz en la dirección x a lo largo de la muestra y el otro lo desvía en la dirección y . El barrido se controla mediante aplicación de una señal eléctrica a uno de los pares de las bobinas de barrido, de manera que el haz de electrones alcanza la muestra a un lado del eje central del sistema de lentes. Variando en función del tiempo la señal eléctrica de este par de bobinas (esto es, las bobinas x), el haz de electrones se mueve describiendo una línea recta a lo largo de la muestra y entonces vuelve a su posición inicial. Después de realizar este barrido lineal, se utiliza el otro par de bobinas (bobinas y y en este caso) para desviar el haz ligeramente y de nuevo se repite el movimiento del haz utilizando las bobinas x . Así, mediante movimientos rápidos del haz, la superficie de la muestra puede ser irradiada completamente con el haz de electrones. Las señales que llegan a las bobinas de barrido pueden ser analógicas o digitales. Los ba-

¹⁵ Las monografías que tratan sobre SEM incluyen Goldstein, y col., *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. New York: Plenum Press, 1981; O. C. Wells y col., *Scanning Electron Microscopy*. New York: McGraw-Hill, 1974.

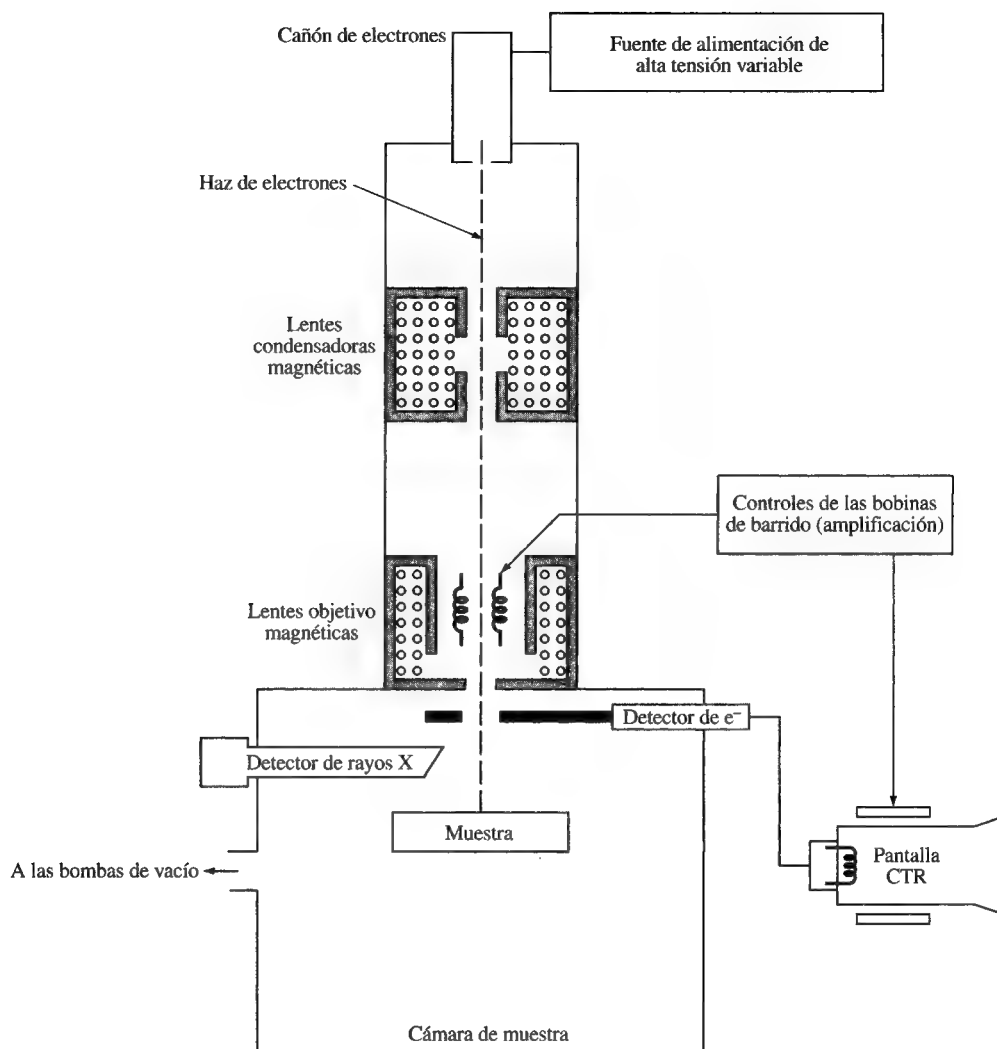


Figura 21-15. Esquema de un SEM o de un microscopio electrónico de barrido.

rridos digitales tienen la ventaja de que ofrecen un movimiento y una localización muy reproducible del haz de electrones. La señal de la muestra puede ser codificada y almacenada en forma digital junto con las representaciones digitales de las posiciones x e y del haz.

Las señales que se utilizan para mover el haz de electrones en las direcciones x e y se utilizan también para llevar a cabo los barridos horizontal y vertical de un tubo de rayos catódicos (CRT). La imagen de la muestra se obtiene utilizando la salida de un detector que permite controlar la intensidad en un punto determinado con el CRT. De este modo, este método de barrido produce un mapa de

la muestra en el que hay una relación uno a uno entre la señal producida en una posición particular n en la superficie de la muestra y el punto correspondiente de la pantalla de CRT. El aumento (M) alcanzado en la imagen SEM viene dado por:

$$M = W/w \quad (21-7)$$

donde W es la anchura de la pantalla CRT y w es la anchura de una única línea de barrido a lo largo de la muestra. Puesto que W es constante, el aumento crece al disminuir w . La relación inversa entre el aumento y la anchura del barrido en la muestra implica que si un haz de electrones fuera focalizado

en un punto infinitamente pequeño podría proporcionar un aumento prácticamente infinito. Sin embargo, muchos otros factores limitan el aumento que se alcanza en un intervalo que va desde $\times 10$ a $\times 100.000$.

Muestra y soporte de muestra. Las cámaras de muestra están diseñadas para permitir cambios rápidos de muestras y para ello, se utilizan bombas de vacío de alta capacidad que permiten disminuir la presión hasta 10^{-4} torr o incluso menos. El soporte de la muestra, o portaobjetos es, en muchos instrumentos, capaz de sujetar, por el borde, muestras de varios centímetros. Además, el portaobjetos puede moverse en las direcciones x , y y z y rotar alrededor de cada uno de los ejes; como consecuencia, las superficies de las muestras se pueden observar desde casi cualquier perspectiva.

Las muestras que conducen la electricidad son las más fáciles de estudiar, ya que la libre circulación de los electrones a tierra permite minimizar los problemas asociados con la acumulación de carga. Además, las muestras que son buenas conductoras de la electricidad son también buenas conductoras del calor, lo que probablemente minimiza su degradación térmica. Desgraciadamente, la mayor parte de las muestras biológicas y muchas muestras minerales no son conductoras. Por ello, se han desarrollado una gran variedad de técnicas que permiten obtener imágenes SEM de muestras no conductoras; de entre ellas, las más comunes implican el recubrimiento de la superficie de la muestra con una película metálica delgada producida por evaporación por bombardeo o por evaporación al vacío. Independientemente del método que se utiliza para obtener un recubrimiento conductor, se debe encontrar un equilibrio para la obtención de un recubrimiento delgado y uniforme que sea conductor y el grosor adecuado para que no enmascare los detalles de la superficie.

Detectores. El tipo más común de detector de electrones utilizado en los microscopios electrónicos de barrido es el detector de centelleo que funciona igual que los detectores de centelleo de rayos X descritos en la Sección 12B-4. En este caso, el detector consiste en un vidrio dopado o una placa de plástico que emite una cascada de fotones visibles cuando es alcanzado por un electrón. Los fotones son guiados por un conducto de luz a un fotomultiplicador que está alojado fuera de la región de alto vacío del instrumento. Las ganan-

cias características con detectores de centelleo son de 10^5 a 10^6 .

Los detectores semiconductores, que están formados por láminas semiconductoras, se utilizan también en los microscopios electrónicos. Cuando un electrón de alta energía alcanza el detector, se producen unos pares hueco-electrón que dan lugar a un aumento de la conductividad. Las ganancias de corriente con los detectores semiconductores son de 10^3 a 10^4 , ahora bien, este tipo de detector es tan pequeño que se puede situar junto a la muestra, lo que permite obtener una elevada eficacia. Además, estos detectores son fáciles de utilizar y son más baratos que los detectores de centelleo. En muchos casos, estas ventajas compensan con creces la baja ganancia del detector semiconductor.

Los rayos X producidos en el microscopio cuando opera en el modo de microsonda electrónica de barrido son normalmente detectados y medidos con un sistema dispersivo de energías como los discutidos en los Apartados 12B-4 y 12B-5. Los sistemas dispersivos de longitud de onda como los descritos en el Apartado 12B-3 también se han utilizado en análisis con microsonda de electrones.

Interacciones de los haces de electrones con los sólidos

La versatilidad del microscopio y de la microsonda electrónica de barrido para el estudio de sólidos proviene de la amplia variedad de señales que se generan cuando el haz de electrones interactúa con el sólido. A continuación se considerarán sólo tres de estas señales: los electrones retrodispersados, los electrones secundarios y la emisión de rayos X. Las interacciones de un sólido con un haz de electrones se pueden dividir en dos categorías: interacciones *elásticas* que afectan a las trayectorias de los electrones en el haz sin que se alteren significativamente sus energías e interacciones *inelásticas*, que resultan de la transferencia total o parcial de la energía de los electrones al sólido. El sólido excitado emite entonces electrones secundarios, electrones Auger, rayos X y a veces fotones de longitudes de onda más largas.

Dispersión elástica. Cuando un electrón colisiona elásticamente con un átomo se produce un cambio en la componente de dirección del electrón pero se mantiene virtualmente intacta la velocidad del mismo; por tanto la energía cinética del electrón permanece prácticamente constante. El ángulo

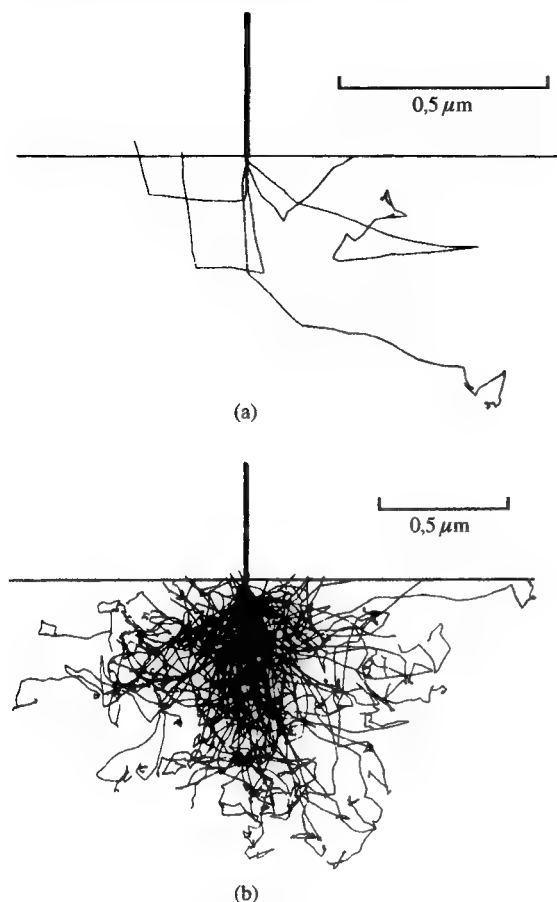


Figura 21-16. Simulación de las trayectorias de los electrones que muestra el volumen de dispersión de los electrones de 20 keV en una muestra de hierro. (a) 5 electrones; (b) 100 electrones. (Reproducción autorizada de J. I. Goldstein, y col., *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*, pág. 62. New York: Plenum Press, 1981.)

de desviación para una colisión dada es aleatorio y puede variar desde 0 hasta 180 grados. La Figura 21-16 muestra una simulación obtenida con un ordenador del comportamiento aleatorio de 5 electrones y 100 electrones cuando penetran perpendicularmente en la superficie de un sólido. La energía que se le asigna al haz es de 20 keV, valor relativamente corriente. Hay que señalar que los electrones penetran hasta una profundidad de $1,5 \mu\text{m}$ o más. Algunos de los electrones pierden su energía por colisiones inelásticas y permanecen en el sólido; sin embargo, la mayoría experimenta numerosas colisiones y como resultado, acaban saliendo de la superficie como electrones retrodispersados. Es importante señalar que el haz de electrones retrodispersado tiene un diámetro mucho mayor que el

haz incidente; por ejemplo, para un haz incidente de 5 nm, el haz retrodispersado puede tener un diámetro de varios micrómetros. El diámetro del haz retrodispersado es uno de los factores que limita la resolución de un microscopio electrónico.

Producción de electrones secundarios. Cuando la superficie de un sólido se bombardea con un haz de electrones cuya energía es del orden de varios keV, se observa que a lo largo de la superficie se emiten electrones con energías de 50 eV o menos junto con los electrones retrodispersados. El número de estos *electrones secundarios* es generalmente, del orden de la mitad a la quinta parte de los electrones retrodispersados o incluso menos. Los electrones secundarios se producen como resultado de interacciones entre los electrones altamente energéticos del haz y los electrones de conducción, débilmente enlazados, del sólido, lo que da lugar a la expulsión de estos electrones de la banda de conducción con energías de unos pocos electronvoltios. Los electrones secundarios se pueden producir a una profundidad de 50 a 500 Å tan sólo y forman un haz que tiene un diámetro algo superior al haz incidente. Puede evitarse que los electrones secundarios lleguen al detector desviando ligeramente la posición del mismo.

Emisión de rayos X. Un tercer efecto del bombardeo de electrones sobre un sólido es la obtención de fotones de rayos X. El mecanismo de su formación es el mismo que el descrito en el Apartado 12A-1. Tanto los espectros de líneas característicos como el espectro continuo de rayos X son producidos y emitidos desde la superficie de la muestra. Esta radiación constituye el fundamento de la microsonda de electrones.

Aplicaciones

El microscopio electrónico de barrido proporciona información morfológica y topográfica sobre la superficie de los sólidos que normalmente es necesaria para entender el comportamiento de las superficies¹⁶. Así, un examen por microscopia de electrones es a menudo la primera etapa en el estudio de las propiedades de las superficies de un sólido. La Figura 21-17 muestra varias microfotografías que ilustran el tipo de información obtenida con este método.

¹⁶ Véase D. E. Newbury y col., *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 1159A, 1245A.

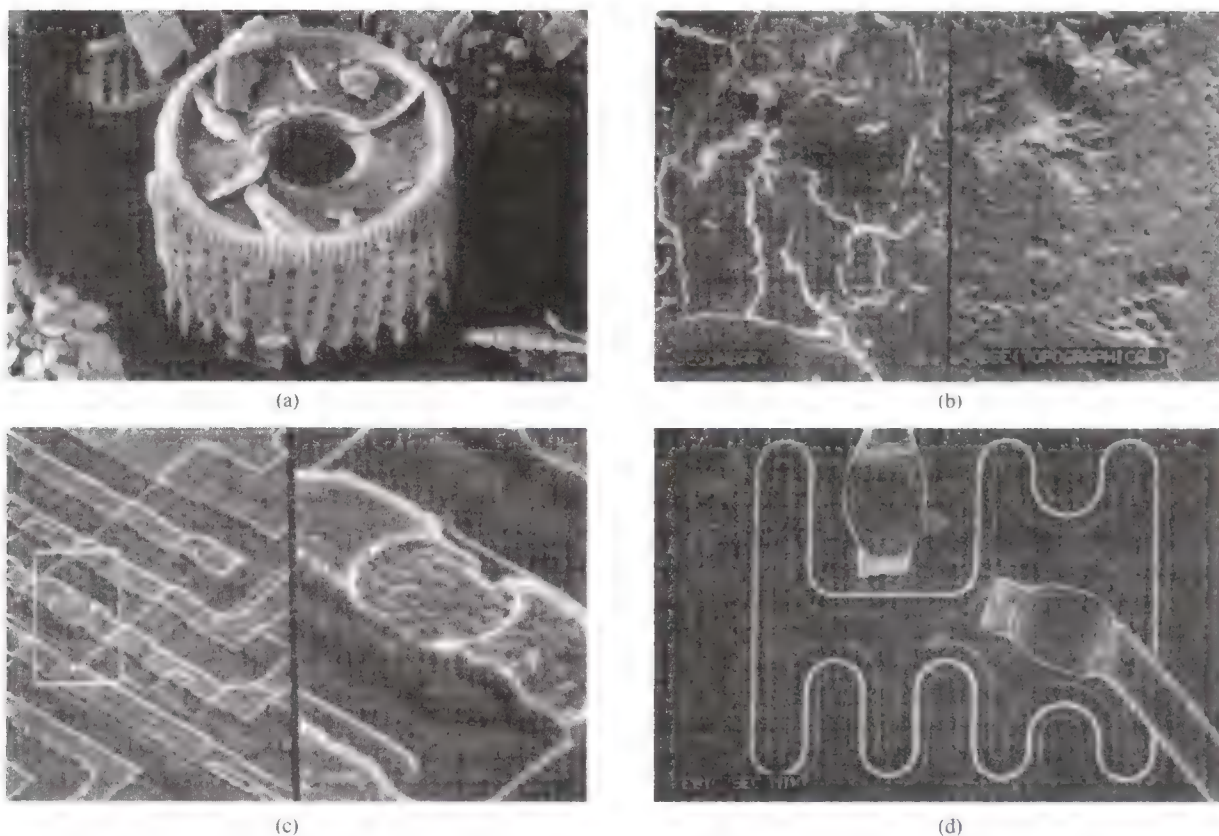


Figura 21-17. Un grupo representativo de microfotografías obtenidas con un aumento y un potencial de aceleración que se especifica para cada imagen. (Cortesía de AMRAY, Bedford, MA.) (a) Imagen de una diatomea (aumento = $\times 5.000$; potencial de aceleración = 10,0 kV). (b) Dos vistas de una misma muestra de cemento: la del lado izquierdo muestra la imagen de los electrones secundarios, la del lado derecho muestra la imagen de los electrones retrodispersados (aumento = $\times 150$; potencial de aceleración = 20,0 kV). (c) El lado izquierdo muestra la imagen de una parte de un circuito integrado, el lado derecho muestra la ampliación del rectángulo marcado de la izquierda (aumento = $\times 850$ izquierda, $\times 3.340$ derecha; potencial de aceleración = 10,0 kV). (d) Imagen de un haz de electrones secundarios de una parte de un componente de circuito. La línea de trazado más claro que rodea a la imagen se debe a la corriente inducida llamada corriente inducida por el haz de electrones (EBIC). Esta corriente es inducida en el dispositivo por el haz de electrones de la fuente (aumento = $\times 320$; potencial de aceleración = 10,0 kV).

21D. MICROSCOPIOS DE SONDA DE BARRIDO

Las microscopios de sonda de barrido (SPMs) son capaces de resolver, a nivel atómico, detalles relativos a las superficies. El primer ejemplo de este tipo de microscopio, el microscopio de barrido por efecto túnel fue descrito en 1982. Tan sólo cuatro años más tarde, en 1986, sus inventores, G. Binnig y H. Rohrer fueron galardonados con el Premio Nobel de Física por su trabajo. Habitualmente, el principal uso de los microscopios de sonda de barrido es la determinación de la topografía de las superficies de las muestras.

A diferencia de los microscopios ópticos y de electrones los microscopios de sonda de barrido

muestran detalles no sólo de los ejes x y y laterales de una muestra sino también del eje z , que es el que queda perpendicular a la superficie. La resolución característica de los SPM es de alrededor de 20 Å en las direcciones x y y , pero con muestras ideales y con los mejores instrumentos se logran resoluciones tan bajas como 1 Å. En la dimensión z , la resolución generalmente es mejor que 1 Å comparándola con la resolución típica de un microscopio electrónico de barrido que es de aproximadamente 50 Å.

Seguidamente se discuten los dos tipos de microscopios de sonda de barrido que están comercializados por varios fabricantes y que son los más ampliamente utilizados: el *microscopio de barrido de efecto túnel* (STM) y el *microscopio de fuerzas*

atómicas (AFM). Ambos se fundamentan en el barrido de la superficie de la muestra en un rastreo programado x/y con una punta (*tip*) muy aguda que se desplaza hacia arriba y hacia abajo a lo largo del eje z siguiendo los cambios de la topografía de la superficie. El movimiento se mide y se traduce, por medio de un ordenador, en una imagen de la topografía de la superficie. A menudo, esta imagen muestra detalles a una escala de tamaño atómico¹⁷.

21D-1. El microscopio de barrido de efecto túnel

El microscopio de Binning/Rohrer por el cual recibieron el Premio Nobel fue un microscopio de barrido de efecto túnel. Este dispositivo fue capaz de resolver las características, a escala atómica, de la superficie de un sólido conductor¹⁸. En la actualidad, estos instrumentos se pueden adquirir a distintos fabricantes de instrumentos y se emplean en análisis de rutina básicos en cientos de laboratorios esparcidos por todo el mundo. Su principal desventaja es la necesidad de que la superficie objeto de estudio sea conductora de la electricidad. El microscopio atómico de fuerzas que se describe en el próximo apartado no presenta esta limitación.

Principios de los microscopios de barrido de efecto túnel

En la microscopia de barrido de efecto túnel, la superficie de la muestra se barre en un rastreo programado mediante una punta metálica muy fina. Como se muestra de manera esquemática en la Figura 21-18a, la punta se mantiene a una distancia constante d por encima de la superficie durante todo el barrido. El movimiento de la punta hacia arriba y hacia abajo refleja, por tanto, la topografía de la superficie. En la figura, las bolitas redondas representan los átomos de carbono individuales en una muestra de grafito pirolítico. Para mayor claridad, la punta se muestra como un cono con la punta redondeada y el paso de la punta durante el barrido por la dirección se muestra por la línea punteada. Para mantener constante la distancia de la punta a la muestra se aplica una *corriente por efecto túnel*

entre la punta y la superficie de la muestra que se controla y se mantiene constante. La corriente por efecto túnel se genera mediante un voltaje V , que se aplica entre la muestra y la punta tal y como se muestra.

La corriente por efecto túnel es una corriente que pasa a través de un medio que no contiene electrones. Ejemplos de ello son: el vacío, un líquido no polar o incluso una disolución acuosa de un electrolito. El mecanismo del paso de corriente a través de un aislante puede comprenderse de acuerdo con los planteamientos de la mecánica cuántica pero no se detallará aquí. Las corrientes por efecto túnel llegan a ser significativas cuando dos conductores están separados unos pocos nanómetros y cuando uno de los conductores tiene forma de punta aguda. En el caso de la punta del *microscopio de barrido de efecto túnel* la magnitud de la corriente por efecto túnel viene dada aproximadamente por:

$$I_t = Ve^{-Cd} \quad (21-8)$$

donde V es la diferencia de potencial entre los conductores, C es una constante característica que depende de la composición de los conductores y d es el espacio que queda entre los átomos más bajos de la punta y los átomos más altos de la muestra. En un *microscopio de barrido de efecto túnel*, la corriente por efecto túnel se mantiene constante mediante un mecanismo de retroalimentación que desplaza la punta hacia abajo de manera que d permanezca constante. El movimiento de la punta está controlado por un transductor piezoeléctrico.

La Ecuación 21-8 pone de manifiesto que la corriente por efecto túnel disminuye exponencialmente con la distancia de separación entre la punta y la muestra. Este descenso rápido de la corriente con la distancia hace que la corriente por efecto túnel sea significativa solamente para separaciones muy pequeñas muestra-punta y es la responsable de la elevada resolución en la dirección z .

Dispositivos de barrido de la muestra¹⁹

En los primeros microscopios de barrido de efecto túnel el movimiento tridimensional de la punta era

¹⁷ Para una cita general sobre la microscopia de sonda de barrido véase R. Weisendanger, *Scanning Probe Microanalysis and Spectroscopy*, New York: Cambridge University Press, 1994.

¹⁸ G. Binnig, H. Rohrer, C. Gerber y E. Weibel, *Phys. Rev. Lett.*, **1982**, 49, 57.

¹⁹ Para una descripción de los rastreadores de la muestra, véase R. S. Howland, en *Atomic Force/Scanning Tunneling Microscopy*, S. H. Cohen, M. T. Bray y M. L. Lightbody, Eds., páginas, 347-358. New York: Plenum Press, 1994; S. Park y R. C. Barrett en *Scanning Tunneling Microscopy*, J. A. Stroscio y W. J. Kaiser, Eds., págs. 51-58. New York: Academic Press, 1993.

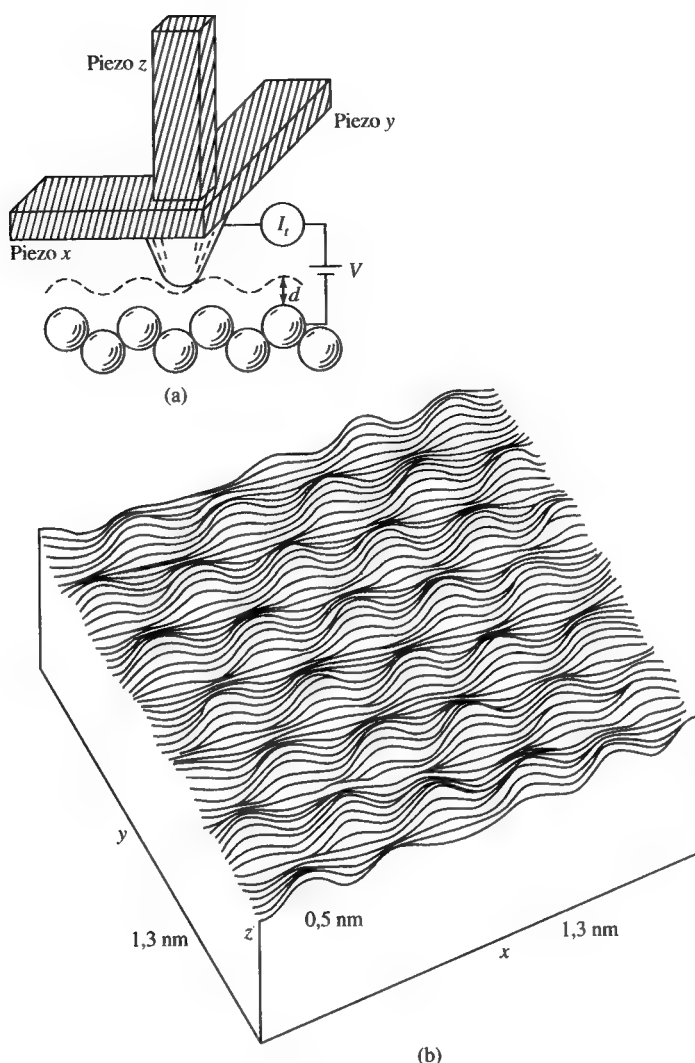


Figura 21-18. (a) Vista esquemática de la punta de un STM barriendo una muestra de grafito pirolítico en la dirección x . La línea discontinua representa la trayectoria de la punta sobre los átomos individuales de carbono que aparecen representados como círculos regulares. (b) Mapa de contorno de la superficie de la muestra.

controlado por tres transductores piezoeléctricos dispuestos en una matriz ortogonal tal y como se muestra en la Figura 21-18a. La longitud de cada uno de los transductores piezoeléctricos puede variarse por aplicación de un potencial de corriente continua a lo largo de toda su longitud, siendo así posible que la punta se desplace en la matriz tridimensionalmente (para el tratamiento de la composición y las propiedades de los transductores piezoeléctricos, consúltese el Apartado 1C-4). Por cada voltio aplicado, el grado de contracción o expansión puede llegar a ser tan pequeño como 1 nm,

dependiendo de la composición del material cerámico piezoeléctrico y de las dimensiones del transductor, y por ello proporciona una manera notablemente sensible de controlar la posición de la punta unida a su extremo.

Los microscopios de barrido modernos no utilizan el diseño de trípode mostrado en la Figura 21-18a, en su lugar están formados por un dispositivo piezoeléctrico que tiene forma de tubo hueco como el que se muestra en la Figura 21-19. La superficie exterior del tubo tiene entre 6 y 12 mm de diámetro y entre 12 y 24 mm de longi-

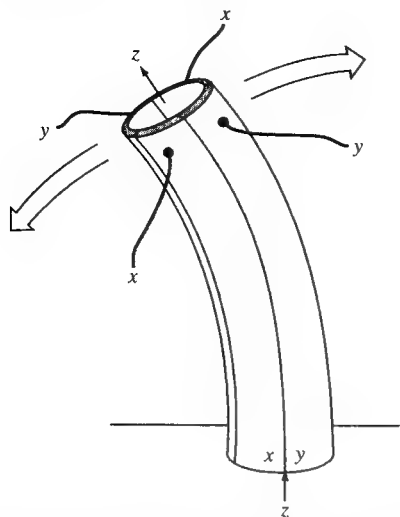


Figura 21-19. Elementos de barrido piezoeléctricos de diseño de tubo segmentado.

tud, y está recubierta con una capa delgada de metal. Esta capa conductora se divide a su vez en cuatro segmentos iguales separados por una bandas verticales que no están recubiertas de metal. La aplicación de potenciales a las tiras opuestas de metal produce una flexión del tubo en las direcciones x e y , tal y como se indica. Igualmente, la aplicación de un potencial a lo largo del eje interior del cilindro produce con toda probabilidad un alargamiento o acercamiento del tubo en la dirección z . Por tanto, aplicando los potenciales adecuados se puede lograr desplazar en las tres dimensiones una punta situada en el centro de uno de los extremos del cilindro.

Los microscopios de barrido emplean rastreadores con intervalos de barrido lateral que van desde unas decenas de angstroms a más de $100\ \mu\text{m}$. Las diferencias de altura se encuentran en el intervalo de sub-angstrom a $10\ \mu\text{m}$. El tamaño máximo de barrido se determina por la longitud, el diámetro y el espesor de la pared del cilindro así como por el coeficiente de tensión del material cerámico con el cual esté fabricado.

Interfase del ordenador

El control por ordenador es una parte esencial de todos los microscopios de barrido de efecto túnel. La mayoría de los STM comercializados utilizan un software y convertidores analógico-digitales para producir el barrido de rastreo x/y . Las tensiones aplicadas a los elementos piezoeléctricos x , y y

z son introducidos en un ordenador donde son procesados y convertidos en mapas de contornos tal y como el que se muestra en la Figura 21-18-b. En el caso de los instrumentos más sofisticados las imágenes pueden tomar la forma de imágenes con tonalidades de grises o mapas por elevación pseudo-coloreados.

Las líneas discontinuas de la Figura 21-18a muestra el recorrido de la punta que barre la superficie de una muestra de grafito pirolítico altamente orientado, los átomos de carbono individuales aparecen representados como bolas redondas. Después de que el barrido en la dirección x se ha completado, la punta vuelve a la posición original y así se desplaza una línea hacia abajo por aplicación de un potencial ligeramente diferente al transductor piezoeléctrico y . Este proceso se repite hasta que se ha obtenido un registro completo de la muestra. Tal registro se muestra en la Figura 21-18b, que consiste en una serie de líneas de contorno que muestra claramente la posición de la nube electrónica de cada átomo de carbono de la superficie de la muestra.

Debido a que la señal de salida del detector es tan sensible a la distancia entre la muestra y la punta, las diferencias en las distancias a lo largo de un contorno dado se ponen de manifiesto en $1/100$ de una dimensión atómica dada. La resolución lateral en un contorno dado depende del radio de curvatura de la punta. Si este radio es el de un único átomo, como normalmente ocurre, se obtiene resolución atómica.

Las puntas²⁰

Las puntas son un componente crucial del STM. Las mejores imágenes se obtienen cuando el efecto túnel está limitado a un único átomo metálico situado en el extremo de la punta. Afortunadamente, es posible construir estas puntas mediante el corte mecánico de hilos de platino/iridio o bien por el ataque electroquímico del hilo de wolframio. La razón de que una punta con un único átomo en su extremo no sea tan difícil de preparar como podría esperarse es el incremento exponencial de la corriente de túnel conforme la distancia punta-muestra disminuye (Ecuación 21-8). Así, la corriente por efecto túnel se incrementa por un factor de diez cuando la distancia punta-muestra desciende en

²⁰ Para una descripción sobre la forma en la que se preparan las puntas, véase S. Park y R. C. Barrett en *Scanning Tunneling Microscopy*, J. A. Stroscio y W. J. Kaiser, Eds., pags. 51-53. New York: Academic Press, 1993.

1 Å. Esto es, si hay un átomo en el extremo de la punta que esté más próximo a la superficie de la muestra en 1 Å que el resto de los otros átomos de la punta, prácticamente toda la corriente circulará a través de ese átomo hacia la muestra, y se obtendrá una resolución atómica.

21D-2. El microscopio de fuerzas atómicas

El microscopio de fuerzas atómicas, que fue inventado en 1986²¹, permite la resolución de átomos individuales tanto de superficies conductoras como aislantes. En esta modalidad, un sensor de fuerza sensible, conjunto fleje punta (*cantilever stylus*), es barrido en un rastreo programado sobre la superficie de la muestra. El campo de fuerzas actúa entre la superficie de la muestra y el fleje (*cantilever*) provocando ligeras desviaciones del fleje que se detectan mediante un sistema óptico. Como en el STM, el movimiento de la punta, o a veces de la muestra, se logra mediante un tubo piezoeléctrico. Durante un barrido, se mantiene constante el campo de fuerzas sobre la punta en el movimiento hacia arriba y hacia abajo de la punta, que entonces proporciona la información topográfica. La ventaja del microscopio de fuerzas atómicas es que es aplicable a muestras no conductoras.

La Figura 21-20 muestra esquemáticamente el método más común de detectar la desviación del fleje que sujeta la punta. Un haz procedente de una fuente de radiación láser es reflejado por el fleje a un fotodiodo segmentado que detecta el movimiento de la sonda. La lectura de salida del fotodiodo controla entonces, el campo de fuerzas aplicado en la punta de tal manera que este permanezca constante. En otras palabras, el sistema de control óptico es análogo al sistema de control de la corriente por efecto túnel en el STM.

La Figura 21-21 muestra el diseño corriente de un AFM. El sistema de movimiento es un dispositivo tubular piezoeléctrico que desplaza la muestra en las direcciones *x*, *y* y *z* bajo la punta. La señal del detector del láser es entonces realimentada en el transductor piezoeléctrico que está en contacto

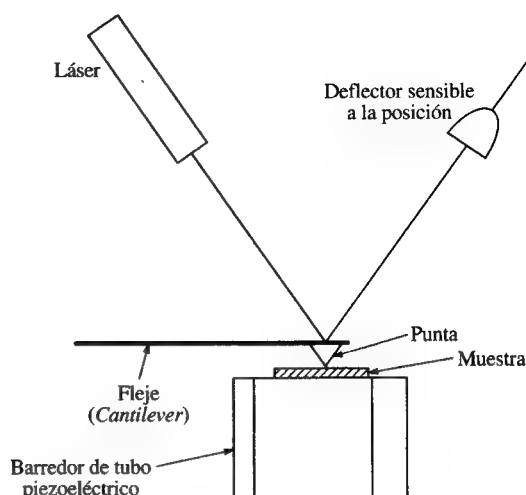


Figura 21-20. Vista lateral de un detector óptico de la flexión del fleje. Típicamente, el sistema es tan sensible como 0,01 nm con los barridos de la punta a la superficie de la muestra.

con la muestra, lo que provoca el movimiento de la muestra hacia arriba y hacia abajo para mantener constante el campo de fuerzas entre la punta y la muestra.

La punta y el fleje

La eficacia del microscopio de fuerzas atómicas depende críticamente de las características de la punta y del fleje. En los primeros microscopios de

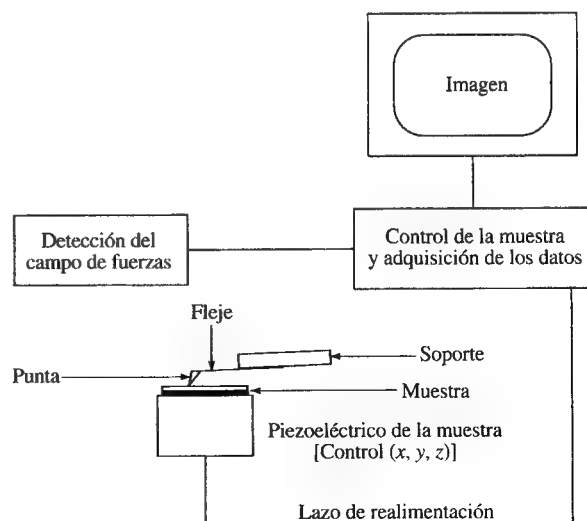
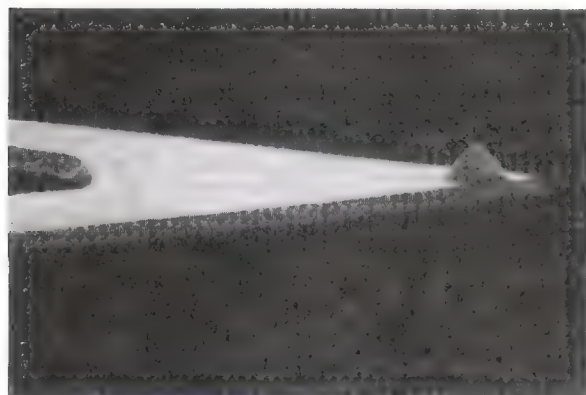


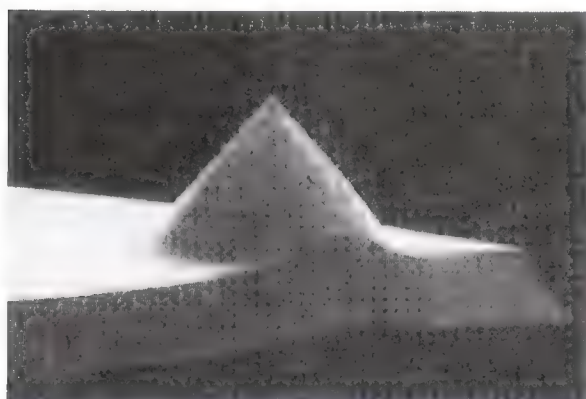
Figura 21-21. Diseño característico de un microscopio de fuerzas atómicas. (Reproducción autorizada de D. R. Louder y B. A. Parkinson, *Anal. Chem.*, 1995, 67, 298A.)

²¹ G. Binnig, C. F. Quate y C. Gerber, *Phys. Rev. Lett.*, 1986, 56, 930. Para un artículo de revisión sobre AFM, véase D. R. Louder y B. A. Parkinson, *Anal. Chem.*, 1995, 67, 297A. Para las descripciones de diversos instrumentos comerciales de AFM, véase A. Newman, *Anal. Chem.*, 1996, 68, 267A.

AFM los flejes eran obtenidos por cortes mecánicos de láminas muy finas de metal y la puntas se fabricaban a partir de partículas de diamante pulverizadas. Las puntas se pegaban laboriosamente a los flejes. Hoy en día este método rudimentario se ha reemplazado por los métodos de producción en masa de semiconductores, en los que los conjuntos punta/fleje se obtienen por ataques a obleas de silicio, óxido de silicio o nitruro de silicio. Los flejes y las puntas son muy delicados y pequeños como sugiere la Figura 21-22. Los flejes típicos son de unas pocas decenas de micrómetro de longitud, menores de diez micrómetros de anchura y aproximadamente de un micrómetro de espesor. Las puntas con forma de pirámide o de cono tienen unos pocos micrómetros de altura y de anchura en la base.



(a) |————— 40 μm —————|



(b) |————— 5 μm —————|

Figura 21-22. Microfotografía (a) de un fleje de SiO_2 y una punta y (b) de una punta de SiO_2 . (Reproducción autorizada de T. R. Albrecht, S. Akamini, T. E. Carver y C. F. Quate, J. Vac. Sci. Technol. A, 1990, 62, 3392.)

Modalidad de trabajo por contacto intermitente (*tapping*)

Una de las desventajas del barrido en la modalidad de contacto como se ha descrito en los párrafos anteriores es que la punta está en contacto constantemente con la superficie de la muestra y ejerciendo una fuerza que puede no sea lo bastante débil como para evitar dañar la superficie de la muestra y en consecuencia distorsionar la imagen. Este problema es particularmente incómodo con los materiales más blandos como las muestras biológicas, polímeros, y aun con algunos materiales aparentemente más duros como las obleas de silicio.

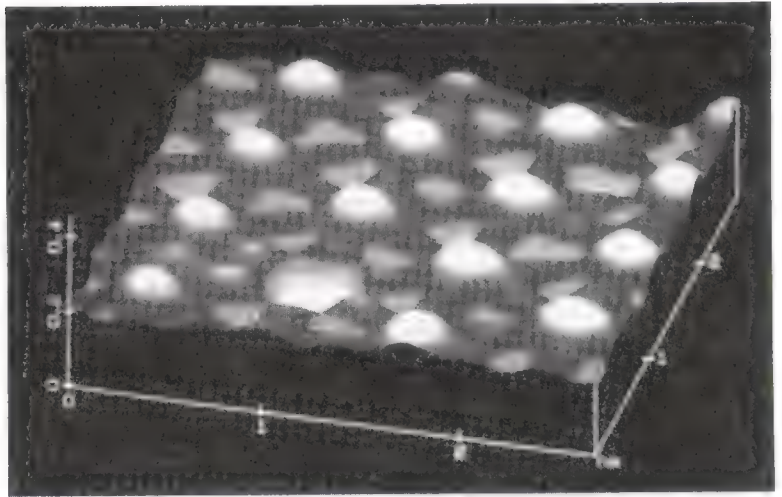
Se ha encontrado que el problema del daño superficial puede ser evitado mediante un proceso en el que la punta está en contacto periódicamente con la superficie solamente en períodos de tiempo cortos para luego retirarse de la superficie²². En la *modalidad por contacto intermitente (tapping)*, el fleje oscila a una frecuencia de unos cientos de kilohertzios. La oscilación se origina por una fuerza externa constante y su amplitud se mide continuamente. El fleje se sitúa de tal modo que la punta esté en contacto con la superficie solamente en el mínimo de cada ciclo de oscilación. Esta técnica ha sido utilizada con éxito para visualizar una gran variedad de materiales de los cuales ha sido muy difícil o imposible obtener imágenes en la modalidad común de contacto constante.

Algunas de las aplicaciones características de los microscopios de sonda de barrido

Los microscopios de sonda de barrido han permitido a científicos e ingenieros poder observar las superficies de diversas estructuras con una resolución sin precedentes. Por tanto, han hallado un extendido uso en innumerables campos. Por ejemplo, en el campo de los semiconductores, han sido utilizados para la caracterización de las superficies de silicio y de los defectos de las mismas, así como para obtener imágenes de materiales magnéticos; en biotecnología para lograr imágenes de materiales como ADN, cromatina, interacciones proteína/enzima, membranas de virus y un largo etcétera. Una de las ventajas de la AFM es que permite obtener imágenes de muestras biológicas en su entorno acuoso en condiciones en las que es menor la distorsión de la imagen. En muestras blandas la distorsión, a menu-

²² Véase Y. E. Strausser y M. G. Heaton, *Amer. Lab.*, 1994 (4), 20.

Figura 21-23. Imagen de $3\text{ nm} \times 3\text{ nm}$ de barrido por STM de una red de átomos de yodo adsorbidos sobre platino. Obsérvese la pérdida de un átomo de yodo en el centro inferior de la imagen. (Cortesía de B. Schardt and Digital Instruments Inc., con permiso.)



do, es consecuencia de las microgotas de agua que se forman en la interfase superficie/punta. Las fuerzas capilares de estas gotas superan, con frecuencia, las fuerzas normales entre la superficie y la punta y oscurecen los detalles superficiales. Curiosamente, si la muestra está en medio acuoso no se produce esta distorsión porque con el agua por encima y por debajo de la punta las fuerzas capilares en dirección hacia arriba y hacia abajo se anulan.

Un ejemplo interesante del potencial de la microscopia de barrido de efecto túnel se muestra en la Figura 21-23. La imagen corresponde a la superficie de una muestra de platino sobre la que están adsorbidos átomos de yodo. La red hexagonal de los átomos de yodo adsorbidos se interrumpe debido a un defecto donde un átomo de yodo está ausente, que aparece como un hueco en el centro inferior de la imagen. El barrido que se muestra representa un

Figura 21-24. Imagen de las moléculas de ADN de doble hélice soportadas sobre mica, demostrando la capacidad de la STM para resolver moléculas que están solapadas. (Cortesía de W. B. Stine, Universidad de California, San Diego, con permiso.)



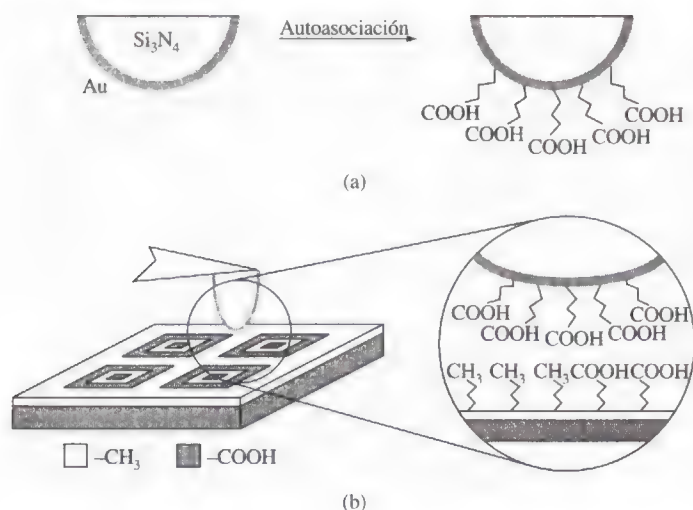


Figura 21-25. Detección de grupos funcionales por microscopia de fuerzas atómicas. (a) Los grupos ácidos carboxílicos están enlazados químicamente al recubrimiento de oro de la punta del AFM. (b) Vistas esquemáticas del experimento. (Recuadro amplificado.) Interacción entre la punta de oro recubierta con los grupos —COOH y la muestra recubierta tanto con grupos —CH_3 como —COOH . (Reproducción autorizada, adaptada de C. D. Frisbie, L. F. Rozsnyai, A. Noy, M. S. Wrighton y C. M. Lieber, *Science*, **1994**, 265, 2072.)

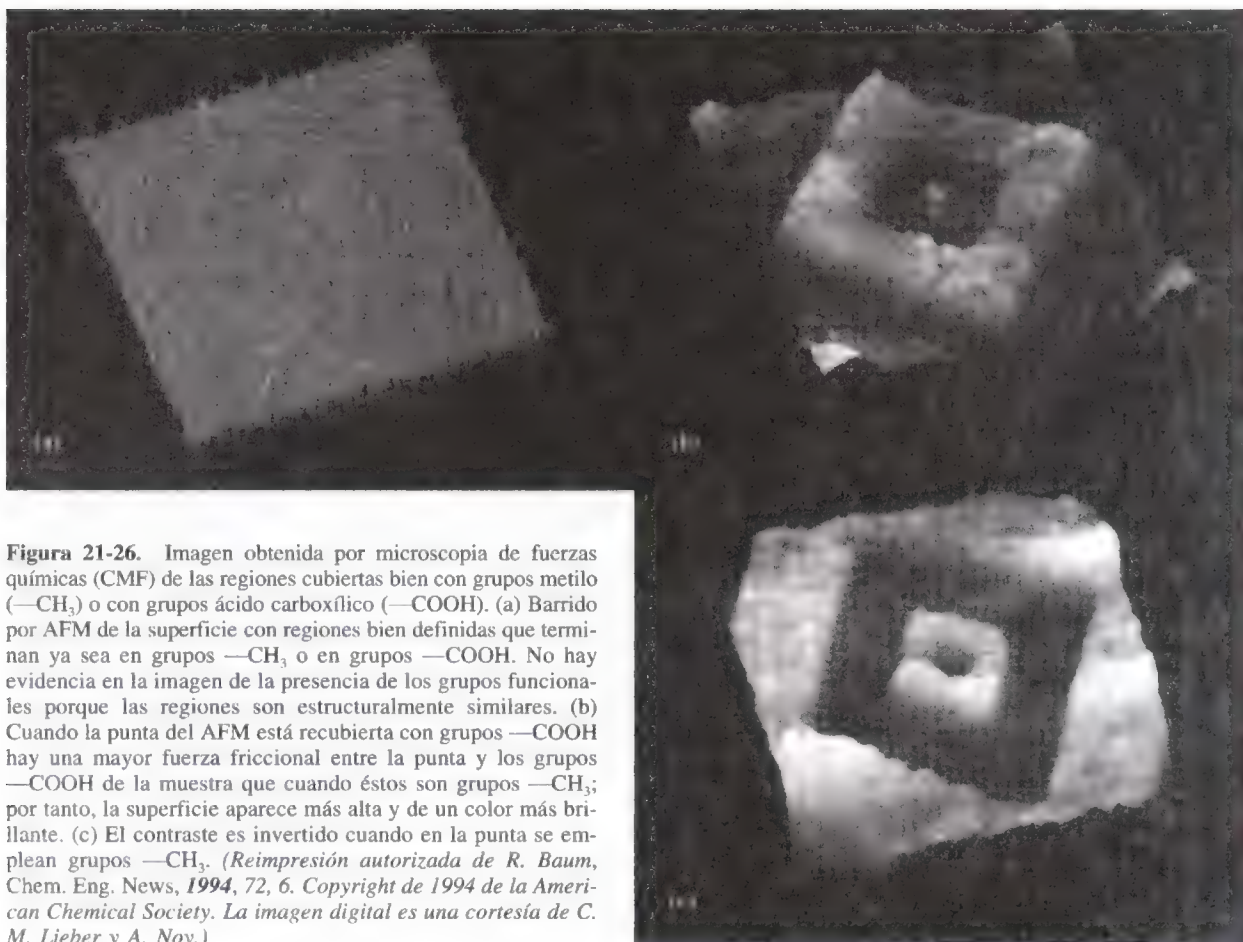


Figura 21-26. Imagen obtenida por microscopia de fuerzas químicas (CMF) de las regiones cubiertas bien con grupos metilo (—CH_3) o con grupos ácido carboxílico (—COOH). (a) Barrido por AFM de la superficie con regiones bien definidas que terminan ya sea en grupos —CH_3 o en grupos —COOH . No hay evidencia en la imagen de la presencia de los grupos funcionales porque las regiones son estructuralmente similares. (b) Cuando la punta del AFM está recubierta con grupos —COOH hay una mayor fuerza friccional entre la punta y los grupos —COOH de la muestra que cuando éstos son grupos —CH_3 ; por tanto, la superficie aparece más alta y de un color más brillante. (c) El contraste es invertido cuando en la punta se emplean grupos —CH_3 . (Reimpresión autorizada de R. Baum, *Chem. Eng. News*, **1994**, 72, 6. Copyright de 1994 de la American Chemical Society. La imagen digital es una cortesía de C. M. Lieber y A. Noy.)

área de la superficie del platino de $2,5 \text{ nm} \times 2,5 \text{ nm}$. Este ejemplo demuestra claramente cómo la STM puede emplearse para revelar la estructura de superficies de sólidos a nivel atómico.

La Figura 21-24 es una imagen de dos moléculas entrelazadas de ADN sobre una superficie de mica obtenida mediante AFM en la modalidad de contacto intermitente. Tales medidas permiten a los bioquímicos el estudio de la estructura del ADN y otras biomoléculas con relativa facilidad.

Una fascinante aplicación de la microscopia de fuerzas atómicas se ilustra en la Figura 21-25²³. En este experimento, una punta de Si_3N_4 recubierta con oro se introduce durante un tiempo en una disolución que contiene un compuesto organoazufrado como el ácido 11-tioundecanóico. El resultado

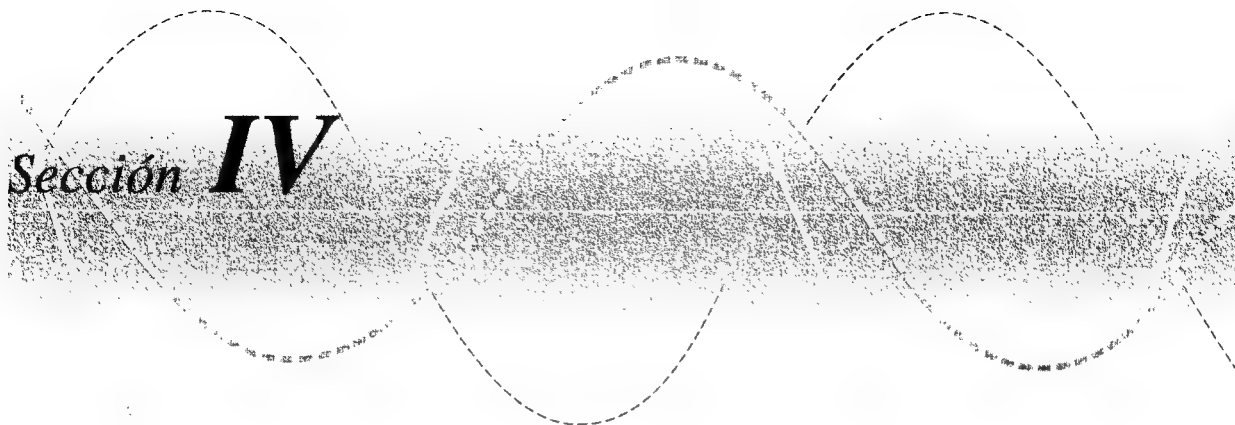
es que el extremo opuesto al grupo de ácido carboxílico en la moléculas de ácido se enlaza covalentemente a la punta de la sonda, de tal forma que la punta está eficazmente recubierta con grupos de ácido carboxílico como se muestra en la Figura 21-25a. Cuando la punta de la sonda barre una superficie que tiene varios grupos funcionales orgánicos enlazados como se muestra en la Figura 21-25b, las diferencias en las fuerzas friccionales entre los grupos de la punta y los otros grupos funcionales situados en la superficie de la muestra dan como resultado una imagen que es un mapa de las posiciones de los grupos funcionales en la superficie. Esta técnica se denomina *microscopia de fuerzas químicas* o CFM (Fig. 21-26). Los estudios por CFM como los anteriores ponen de manifiesto que la microscopia de sonda de barrido proporciona una información analítica cualitativa lo suficientemente específica como para dar información de la disposición espacial de los analitos sobre las superficies.

²³ C. D. Frisbie, L. F. Rozsnyai, A. Noy, M. S. Wrighton y C. M. Lieber, *Science*, **1994**, 265, 2071.

21E. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 21-1. Describir el mecanismo de producción de un electrón Auger MNN.
- 21-2. Describir cómo es posible distinguir entre picos XPS y picos de electrones Auger.
- 21-3. Explicar por qué la información de un desplazamiento químico XPS debe estar contenida también en una discontinuidad de absorción de rayos X.
- 21-4. Se encontró que un electrón XPS tenía una energía cinética de 1.073,5 eV cuando se empleaba como fuente la línea K_α del Mg ($\lambda = 9,8900 \text{ \AA}$). El espectrómetro de electrones tenía una función de trabajo de 14,7 eV.
- Calcular la energía de enlace del electrón emitido.
 - Si la señal fuese de un electrón del azufre (2s), ¿cuál sería el analito: S^{2-} , S^0 , SO_3^{2-} o SO_4^{2-} ?
 - ¿Cuál hubiera sido la energía cinética si se hubiera utilizado como fuente la K_α del Al ($\lambda = 8,3393 \text{ \AA}$)?
 - ¿Cuál sería la energía cinética del electrón si en lugar de utilizar la línea K_α del Mg se hubiese utilizado la K_α de Al?
- 21-5. Se encontró que un electrón XPS tenía una energía cinética de 1.052,6 eV cuando era expulsado empleando como fuente la línea K_α del Al ($\lambda = 8,3393 \text{ \AA}$) y medido en un espectrómetro con una función de trabajo de 27,8 eV. Se supone que es un electrón N(1s) en NaNO_3 .
- ¿Cuál era la energía de enlace del electrón?
 - ¿Cuál sería la energía cinética del electrón si se utilizara como fuente la línea K_α del Mg ($\lambda = 9,8900 \text{ \AA}$)?
 - ¿Cómo se puede estar seguro de que es un pico XPS y no un pico de un electrón Auger?
 - ¿A qué energías de enlace y energía cinética se podría esperar un pico para el NaNO_2 si se utilizara la fuente K_α del Al con el mismo espectrómetro?

- 21-6.** Suponiendo que la pantalla CRT de un microscopio de barrido de electrones tiene 20 cm de ancho. ¿Qué anchura de barrido sobre la muestra se necesitaría para alcanzar un aumento de (a) 100, (b) 100.000?
- 21-7.** Diferenciar entre la dispersión de electrones elástica y la inelástica.
- 21-8.** (a) Nombrar dos tipos de microscopios de sonda de barrido.
(b) ¿En qué se diferencian?
(c) ¿Qué ventajas tiene cada uno?
(d) ¿Qué desventajas tiene cada uno?
- 21-9.** ¿Qué es un barrido de exploración?

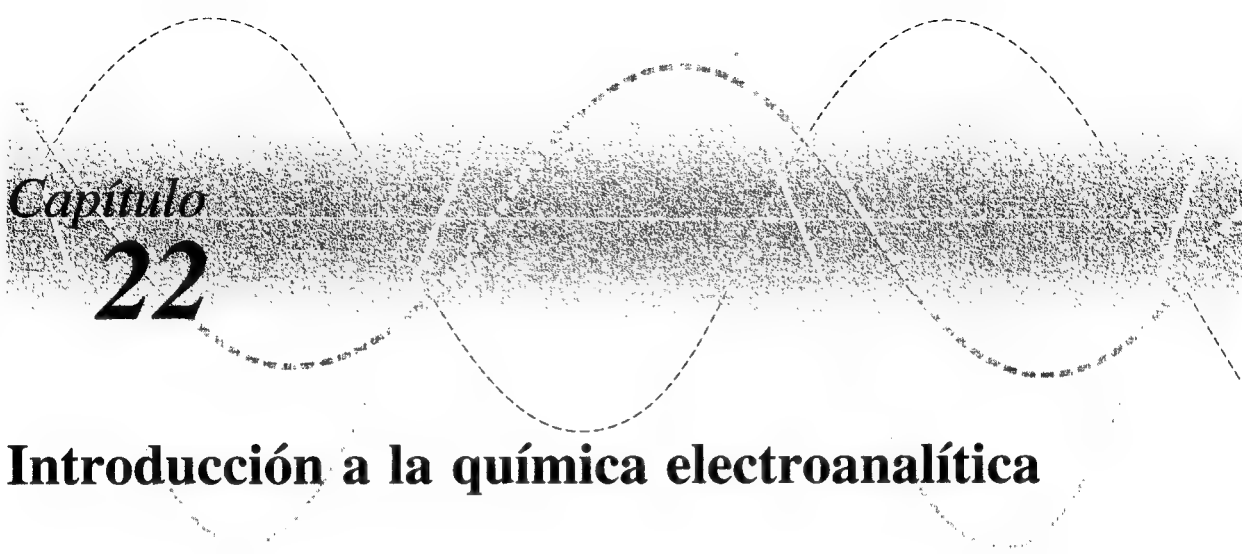


Sección **IV**

Química electroanalítica

- 22. Introducción a la química electroanalítica
- 23. Potenciometría
- 24. Culombimetría
- 25. Voltamperometría

En esta sección se examinan la teoría y la metodología de la química electroanalítica. El Capítulo 22 proporciona una base general para el estudio de los capítulos que le siguen en esta sección. En él se presentan la terminología y los convenios de la electroquímica así como aspectos teóricos y prácticos de las mediciones de potenciales electroquímicos e intensidades de corriente. El Capítulo 23 comprende los numerosos métodos y aplicaciones de la potenciometría, mientras que la culombimetría a potencial constante, la culombimetría a intensidad constante, y la electrogravimetría se tratan en el Capítulo 24. Esta sección concluye con el estudio de los múltiples aspectos de la importante y ampliamente utilizada técnica de la voltamperometría.



Capítulo 22

Introducción a la química electroanalítica

La química electroanalítica abarca un grupo de métodos analíticos cuantitativos basados en las propiedades eléctricas de una disolución de analito cuando forma parte de una celda electroquímica¹. Las técnicas electroanalíticas son capaces de proporcionar límites de detección excepcionalmente bajos y una abundante información de caracterización que describe los sistemas tratables electroquímicamente. Tal información incluye la estequiometría y la velocidad de transferencia de carga interfacial, la velocidad de transferencia de masa, la extensión de la adsorción o de la quimisorción y las y constantes de velocidad y de equilibrio de reacciones químicas.

Los métodos electroanalíticos tienen ciertas ventajas de carácter general sobre otros tipos de procedimientos tratados en este libro. En primer lugar, las medidas electroquímicas son a menudo específicas para un estado de oxidación particular de un elemento. Por ejemplo, los métodos electroquímicos hacen posible la determinación de la concentración de cada una de las especies en una mezcla de cerio(III) y cerio(IV), mientras que la mayor parte del resto de métodos analíticos sólo pueden proporcionar la concentración total de cerio. Una segunda ventaja importante de los métodos electroquímicos es que la instrumentación es relativamente económica. El instrumento electroquímico más caro cuesta unos 20.000 dólares, y el precio de un instrumento comercial típico de uso múltiple se encuentra en el intervalo de los 4.000 a los 5.000 dólares. Por el contrario, muchos instrumentos espectroscópicos cuestan de 50.000 a 250.000 dólares o más. Una tercera característica de ciertos métodos electroquímicos, que puede ser una ventaja o una desventaja, es que proporcionan información sobre las actividades en vez de las concentraciones de las especies químicas. Normal-

¹ Algunos trabajos de referencia en electroquímica y sus aplicaciones incluyen: A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*. New York: Wiley, 1980; D. T. Sawyer, A. Sobkowiak, y J. L. Roberts, *Electrochemistry for Chemists*, 2.^a ed. New York: Wiley, 1995; J. Koryta y J. Dvorak, *Principles of Electrochemistry*. New York: Wiley, 1987; *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, 2.^a ed., P. T. Kissinger y W. R. Heineman, Eds. New York: Marcel Dekker, 1996; Z. Galus, *Fundamentals of Electrochemical Analysis*, 2.^a ed. New York: Ellis Horwood, 1994. La clásica, pero todavía útil monografía que trata de química electroanalítica es J. J. Lingane, *Electroanalytical Chemistry*, 2.^a ed. New York: Interscience, 1958.

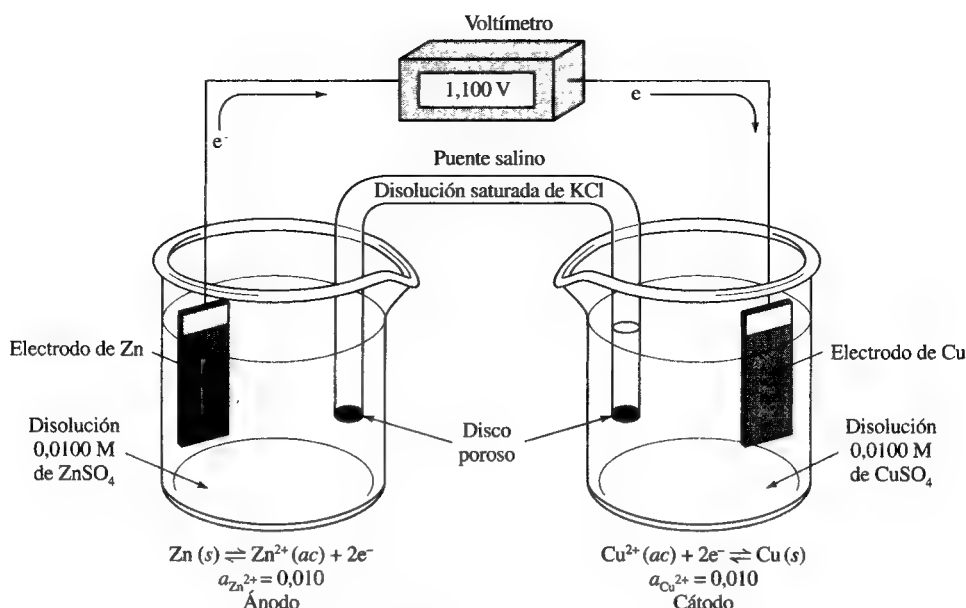


Figura 22-1. Celda electroquímica galvánica con puente salino.

mente, en estudios fisiológicos, las actividades de iones tales como el calcio o el potasio son de mayor significación que las concentraciones.

La aplicación inteligente de los diversos métodos electroanalíticos que se describen en los tres capítulos que siguen requiere una comprensión de la teoría básica y de los aspectos prácticos del modo de funcionamiento de las celdas electroquímicas de corriente continua (cc). Este capítulo se dedica en su mayor parte a estos temas².

22A. CELDAS ELECTROQUÍMICAS

Una celda electroquímica de corriente continua consta de dos conductores eléctricos llamados *electrodos*, cada uno sumergido en una disolución adecuada de electrólito. Para que circule una corriente en una celda es necesario (1) que los electrodos se conecten externamente mediante un conductor metálico, (2) que las dos disoluciones de electrólito estén en contacto para permitir el movimiento de los iones de una a otra, y (3) que pueda

tener lugar una reacción de transferencia de electrones en cada uno de los dos electrodos. La Figura 22-1 muestra un ejemplo de una sencilla celda electroquímica. Consiste en un electrodo de cinc sumergido en una disolución de sulfato de cinc y un electrodo de cobre en una disolución de sulfato de cobre. Las dos disoluciones están unidas por un *puente salino*, que consiste en un tubo relleno con una disolución, que está saturada de cloruro de potasio, o a veces de algún otro electrólito. Los dos extremos del tubo están equipados con tapones porosos que permiten el movimiento de iones a su través pero que evitan el paso de líquido desde una disolución de electrólito a la otra. La función del puente es aislar los contenidos de las dos mitades de la celda mientras se mantiene el contacto eléctrico entre ellas. El aislamiento es necesario para evitar la reacción directa entre los iones cobre y el electrodo de cinc.

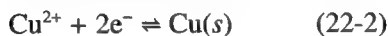
La celda de la Figura 22-1 contiene lo que se llama dos *uniones líquidas*, siendo la primera la interfase entre la disolución de sulfato de cinc y el puente salino; la segunda está en el otro extremo del puente salino donde la disolución de electrólito del puente contacta con la disolución de sulfato de cobre. Como más tarde mostraremos, se desarrolla un pequeño *potencial de unión* en cada una de esas interfases que puede llegar a ser importante y afectar a la exactitud de los análisis.

² Para una revisión breve de los recientes desarrollos en instrumentación electroquímica, véase S. Borman, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 347A; J. Osteryoung, *Science*, **1982**, 218, 261.

22A-1. Conducción en una celda

La carga es conducida por tres procesos diferentes en las distintas partes de la celda mostrada en la Figura 22-1:

1. En los electrodos de cobre y de cinc, así como en el conductor externo, los electrones sirven de portadores, moviéndose desde el cinc, a través del conductor, hasta el cobre.
2. En las disoluciones el flujo de electricidad implica la migración tanto de cationes como de aniones. En la semicelda de la izquierda, los iones cinc migran alejándose del electrodo, mientras que los iones sulfato e hidrógeno sulfato se mueven hacia él; en el otro compartimento, los iones cobre se mueven hacia el electrodo y los aniones se alejan de él. Dentro del puente salino, la electricidad es transportada por migración de los iones potasio hacia la derecha y de los iones cloruro hacia la izquierda. Por tanto, todos los iones, en las tres disoluciones, participan en el flujo de electricidad.
3. En las superficies de los dos electrodos tiene lugar un tercer proceso. En este caso, una reacción de oxidación o una de reducción proporcionan un mecanismo mediante el cual la conducción iónica de la disolución se acopla con la conducción electrónica del electrodo para proporcionar un circuito completo para el flujo de carga. Los dos procesos de electrodo se describen mediante las ecuaciones



22A-2. Estructura de la disolución; la doble capa

Es importante darse cuenta que las medidas electroquímicas implican sistemas heterogéneos debido a que un electrodo sólo puede donar o aceptar electrones de una especie que esté inmediatamente adyacente al mismo. Así, esta capa puede tener una composición que difiere significativamente de la del seno de la disolución. Por ejemplo, consideremos la estructura de la disolución inmediatamente adyacente a un electrodo cuando aplicamos primero un potencial positivo a ese electrodo. Inmediatamente después de imponer el potencial, habrá un

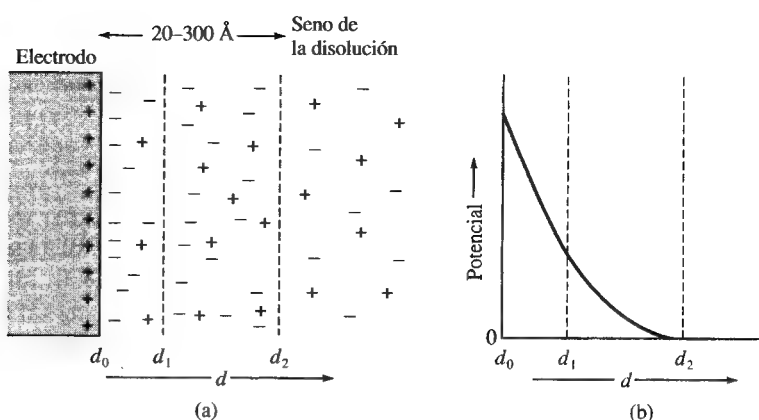
momentáneo brote de corriente, que rápidamente decaerá a cero si no está presente una especie reactiva en la superficie del electrodo. Esta corriente es una corriente de carga que crea un exceso (o una deficiencia) de carga negativa en la superficie de los dos electrodos. Sin embargo, como consecuencia de la movilidad iónica, las capas de la disolución inmediatamente adyacentes a los electrodos adquieren una carga opuesta. Este efecto se ilustra en la Figura 22-2a. Se muestra la superficie del electrodo metálico con un exceso de carga positiva como consecuencia del potencial positivo aplicado. La capa de disolución cargada consta de dos partes: (1) una capa interior compacta (d_0 a d_1) en la que el potencial disminuye linealmente con la distancia a la superficie del electrodo y (2) una capa difusa (d_1 a d_2), en la cual la disminución es exponencial (véase Fig. 22-2b). Esta disposición de la carga en la superficie del electrodo y en la disolución adyacente a la superficie se denomina *doble capa eléctrica*.

22A-3. Corrientes faradaicas y no faradaicas

Dos tipos de procesos pueden dar lugar a corrientes a través de una interfase electrodo/disolución. Uno de ellos implica una transferencia directa de electrones vía una reacción de oxidación en un electrodo y una reacción de reducción en el otro. A los procesos de este tipo se les llama *procesos faradaicos* porque están gobernados por la ley de Faraday, que establece que la extensión de una reacción química en un electrodo es proporcional a la intensidad de corriente; las corrientes resultantes son llamadas *corrientes faradaicas*.

En ciertas condiciones las celdas presentan un intervalo de potenciales donde los procesos faradaicos están excluidos en uno o en ambos electrodos por razones termodinámicas o cinéticas. En estos casos, todavía puede tener lugar la conducción permanente de corriente alterna. Con tales corrientes, tiene lugar una inversión de las relaciones de carga en cada medio ciclo, ya que primero los iones negativos y luego los positivos son atraídos alternativamente a la superficie del electrodo. La energía eléctrica se consume y se convierte en calor debido a la fricción asociada con este movimiento iónico. Así, cada superficie del electrodo se comporta como una placa de un condensador, cuya capacidad puede ser elevada (de varios cientos a

Figura 22-2. Doble capa eléctrica formada en la superficie del electrodo como resultado de un potencial aplicado.



varios miles de microfaradios por cm^2). La corriente capacitiva aumenta con la frecuencia y con el área del electrodo; controlando estas variables, es posible establecer condiciones en las que esencialmente toda la corriente alterna en una celda sea transportada a través de la interfase del electrodo por este proceso no faradaico.

Para comprender la diferencia básica entre una corriente faradaica y no faradaica, imagine un electrón viajando a través del circuito externo hacia la superficie de un electrodo. Cuando el electrón alcanza la interfase de la disolución, puede hacer sólo una de dos cosas. Puede permanecer en la superficie del electrodo y aumentar la carga de la doble capa, lo que constituye una corriente no faradaica. Alternativamente, puede abandonar la superficie del electrodo y transferirse a una especie en la disolución, convirtiéndose de este modo en parte de una corriente faradaica.

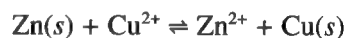
22A-4. Transferencia de masa en celdas asociada al paso de corriente

Debido a que un electrodo sólo puede interaccionar con una capa muy delgada de disolución en contacto con la superficie del electrodo (d_0 a d_1 en la Figura 22-2a), una corriente faradaica requiere la continua transferencia de masa de especies reactivas desde el seno de la disolución hasta la superficie del electrodo. Esta transferencia de masa se lleva a cabo por tres mecanismos: *convección*, *migración* y *difusión*. La convección implica el movimiento mecánico de la disolución como consecuencia de la agitación o del flujo de la disolución delante de la superficie del electrodo. La migración es el movimiento de los iones en la disolución producido

por atracción electrostática entre los iones y el electrodo cargado. La difusión es el movimiento de las especies como consecuencia de un gradiente de concentración. En el Apartado 22E-3 se da un tratamiento detallado de estos mecanismos de transferencia de masa.

22A-5. Celdas galvánicas y electrolíticas

La reacción neta que tiene lugar en la celda mostrada en la Figura 22-1 es la suma de dos reacciones de semi-celda mostradas en las Ecuaciones 22-1 y 22-2. Esto es,

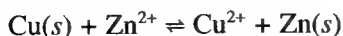


El potencial que se desarrolla en esta celda es una medida de la tendencia de esta reacción a evolucionar hacia el equilibrio. Así, como se muestra en la Figura 22-1, cuando las actividades del cobre y del cinc son 0,0100 M, se desarrolla un potencial de 1,100 V, que indica que la reacción está lejos del equilibrio. A medida que tiene lugar la reacción, el potencial se hace cada vez más pequeño, alcanzando finalmente 0,000 V cuando el sistema llega al equilibrio.

Las celdas, como la mostrada en la Figura 22-1, que funcionan de manera que producen energía eléctrica se llaman *celdas galvánicas*. Y por el contrario, las *celdas electrolíticas* consumen energía eléctrica. Por ejemplo, la celda considerada podría convertirse en electrolítica conectando la terminal negativa de una fuente de alimentación de corriente continua al electrodo de cinc y la terminal positiva al electrodo de cobre.

Si la salida de esta fuente se hace algo mayor de 1,1 V, las dos reacciones de electrodo se invierte-

rán y la reacción neta en la celda sería



Una celda en la que invirtiendo la dirección de la corriente se invierten las reacciones en los electrodos se llama *celda químicamente reversible*.

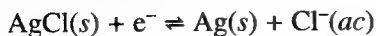
22A-6. Ánodos y cátodos

Por definición, el *cátodo* de una celda electroquímica es el electrodo en el que tiene lugar la reducción, mientras que el *ánodo* es el electrodo en el que tiene lugar la oxidación. Estas definiciones se aplican tanto a las celdas galvánicas como a las electrolíticas. Para la celda galvánica mostrada en la Figura 22-1, el electrodo de cobre es el cátodo y el electrodo de cinc es el ánodo. Por el contrario, cuando esta misma celda funciona como celda electrolítica, el electrodo de cobre sería el ánodo y el electrodo de cinc el cátodo.

22A-7. Celdas sin uniones líquidas

La interfase entre dos disoluciones que contienen electrolitos diferentes o diferentes concentraciones del mismo electrolito se llama *unión líquida*. A menudo, las celdas electroquímicas contienen una o más uniones líquidas. Por ejemplo, la celda mostrada en la Figura 22-1 tiene dos uniones líquidas, una entre la disolución de sulfato de cinc y un extremo del puente salino, la otra entre la disolución de sulfato de cobre y el otro extremo del puente salino. Las uniones líquidas son a veces importantes en las medidas electroquímicas porque en estas interfases se desarrolla un pequeño *potencial de unión* que influye en la magnitud de los potenciales de celda totales medidos. El origen y efecto de los potenciales de unión se trata con algún detalle en el Apartado 22B-2 y en el Capítulo 23.

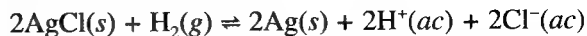
A veces es posible y ventajoso construir celdas en las que los electrodos tienen un electrolito común y se elimina así el efecto de los potenciales de unión. Un ejemplo de una celda de este tipo se muestra en la Figura 22-3. En este caso, la reacción en el cátodo de plata puede escribirse como



Se consume hidrógeno en el ánodo de platino:

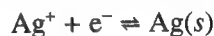
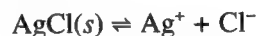


La reacción global en la celda se obtiene multiplicando por dos cada término de la primera ecuación y sumando. Esto es:



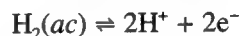
La reacción directa entre el hidrógeno y el cloruro de plata sólido es tan lenta que se puede emplear un electrolito común sin pérdida significativa de eficacia de la celda por reacción directa de los componentes de la misma.

La reacción que tiene lugar en el cátodo de esta celda es de interés debido a que puede considerarse el resultado de un proceso en dos etapas que se describe por las reacciones



En la primera etapa tiene lugar la disolución del cloruro de plata, escasamente soluble, para proporcionar una concentración esencialmente constante de iones plata que serán después reducidos en la segunda etapa.

La reacción anódica en la celda es también un proceso en dos etapas que pueden formularse como



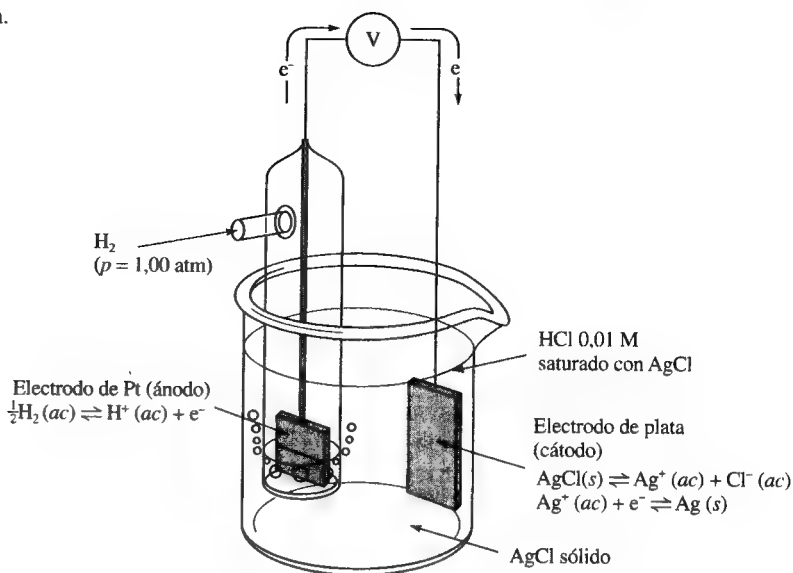
En este caso se borbotea hidrógeno a lo largo de la superficie de un electrodo de platino, de forma que se mantiene la concentración del gas a un valor constante en toda la superficie. Obsérvese que en este caso el electrodo de platino no participa directamente en la reacción, sino que únicamente sirve como recipiente de electrones.

La celda de la Figura 22-3 se comporta como una celda galvánica que desarrolla un potencial de alrededor de 0,46 V. Esta celda es también químicamente reversible y puede funcionar como una celda electrolítica mediante la aplicación de un potencial externo algo mayor de 0,46 V.

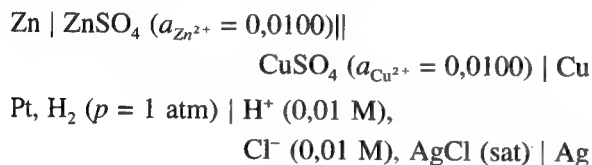
22A-8. Representación esquemática de las celdas

Para simplificar la descripción de las celdas, los químicos emplean con frecuencia una notación

Figura 22-3. Celda galvánica sin unión líquida.



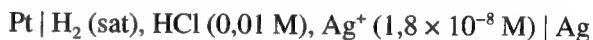
abreviada. Por ejemplo, las celdas mostradas en las Figuras 22-1 y 22-3 pueden describirse como



Por convenio, *el ánodo y la información sobre la disolución con la que está en contacto se escriben siempre a la izquierda*. Las líneas verticales representan límites entre fases a través de los cuales se pueden desarrollar diferencias de potencial. Así, en el primer ejemplo, una parte del potencial de la celda es la diferencia de potencial a través del límite entre las fases, entre el electrodo de cinc y la disolución de sulfato de cinc. También se desarrollan pequeñas diferencias de potencial a través de las uniones líquidas; así, se colocan dos líneas verticales entre las disoluciones de sulfato de cinc y sulfato de cobre, que corresponden a las dos uniones en cada extremo del puente salino. El cátodo se representa entonces simbólicamente con otra línea vertical que separa la disolución de electrolito del electrodo de cobre. Ya que el potencial de una celda depende de las actividades de los constituyentes de la misma, es una práctica común indicar los datos de actividades o concentraciones de los constituyentes de la celda entre paréntesis.

En la segunda celda, sólo existen dos límites entre fases, ya que el electrolito es común a ambos

electrodos. Una representación simplificada de esta celda sería



Aquí, la concentración de hidrógeno molecular es la de una disolución saturada; en ausencia de datos sobre la presión parcial, se considera 1,00 atm. La concentración molar de ion plata indicada se calculó a partir de la constante del producto de solubilidad del cloruro de plata.

22B. POTENCIALES EN CELDAS ELECTROANALÍTICAS

Los métodos electroanalíticos pueden basarse ya sea en la medida de (1) la intensidad de corriente en una celda electroquímica a un potencial fijo o (2) el potencial de una celda mientras que la intensidad de corriente se fija a algún valor constante. Sin embargo, en general, en un experimento electroquímico, el experimentador sólo puede controlar que el potencial de la celda tenga un cierto valor deseado y medir la intensidad de corriente resultante, o viceversa.

La elección del control de una variable impide cualquier control independiente de la otra.

En este apartado primero se considera la termodinámica de las celdas electroquímicas y las relaciones entre las actividades de los participantes en las reacciones características de celda y los poten-

ciales observados en la misma. Se describe después el origen de los potenciales de unión encontrados en la mayor parte de las celdas electroquímicas. En el Apartado 22C que sigue, se consideran los potenciales individuales de los cátodos y los ánodos que componen las celdas.

22B-1. Termodinámica de los potenciales de celda

Es importante comprender que el potencial de una celda electroquímica se relaciona con las *actividades* de los reactantes y los productos de la reacción en la celda e indirectamente con sus concentraciones molares. Con frecuencia, haremos la aproximación de que estas actividades son iguales a las concentraciones molares, pero debería tenerse siempre presente que esta suposición puede producir errores en los potenciales calculados. En el Apéndice 2 se revisa la relación entre la actividad de una especie química y su concentración.

Recuérdese que la actividad a_X de la especie X viene dada por

$$a_X = \gamma_X[X] \quad (22-3)$$

donde, γ_X es el coeficiente de actividad del soluto X y el término entre paréntesis es la concentración molar de X. En algunos ejemplos, sin embargo, por conveniencia supondremos que el coeficiente de actividad se aproxima a la unidad por lo que son idénticas la concentración molar y la actividad de una especie.

Esta sección trata de la manera en que las actividades de los reactantes y los productos afectan al potencial de una celda electroquímica. Se utiliza como ejemplo la celda ilustrada en la Figura 22-3 para la cual la reacción de celda es



La constante de equilibrio K para esta reacción viene dada por

$$K = \frac{a_{\text{H}^+}^2 \cdot a_{\text{Cl}^-}^2 \cdot a_{\text{Ag}}^2}{p_{\text{H}_2} \cdot a_{\text{AgCl}}^2}$$

donde a son las actividades de las diferentes especies indicadas por los subíndices y p_{H_2} es la presión parcial del hidrógeno en atmósferas.

En el Apéndice 2, se indica que la actividad de un sólido puro es la unidad cuando está presente en

exceso (esto es, $a_{\text{Ag}} = a_{\text{AgCl}} = 1,00$). Por tanto, la ecuación precedente se simplifica a

$$K = \frac{a_{\text{H}^+}^2 \cdot a_{\text{Cl}^-}^2}{p_{\text{H}_2}} \quad (22-5)$$

Es conveniente definir un segundo parámetro Q tal que

$$Q = \frac{(a_{\text{H}^+})_i^2 (a_{\text{Cl}^-})_i^2}{(p_{\text{H}_2})_i} \quad (22-6)$$

Aquí, el subíndice i indica que los términos entre paréntesis son las actividades instantáneas y *no las actividades en el equilibrio*. Por tanto, el parámetro Q no es una constante sino que cambia continuamente hasta que se alcanza el equilibrio; en ese punto, Q se hace igual a K , y los subíndices i se eliminan.

A partir de consideraciones termodinámicas, puede verse que la variación de energía libre ΔG para una reacción de celda (esto es, el máximo trabajo que se puede obtener a temperatura y presión constantes) viene dado por

$$\Delta G = RT \ln Q - RT \ln K = RT \ln \frac{Q}{K} \quad (22-7)$$

donde R es la constante de los gases ($8,316 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) y T es la temperatura en kelvins; $\ln$ se refiere al logaritmo en base e . Esta relación implica que el valor de la energía libre del sistema depende de cuán alejado esté el sistema del estado de equilibrio. Puede verse también que el potencial de celda E_{cel} se relaciona con la variación de energía libre de la reacción mediante la relación

$$\Delta G = -nFE_{\text{cel}} \quad (22-8)$$

donde F es el faraday (96.485 culombios por mol de electrones) y n es el número de moles de electrones asociados con el proceso de oxidación/reducción (en este ejemplo, $n = 2$).

La sustitución de las Ecuaciones 22-6 y 22-8 en la 22-7 da, después de reordenar,

$$\begin{aligned} E_{\text{cel}} &= -\frac{RT}{nF} \ln Q + \frac{RT}{nF} \ln K \\ &= -\frac{RT}{nF} \ln \frac{(a_{\text{H}^+})_i^2 (a_{\text{Cl}^-})_i^2}{(p_{\text{H}_2})_i} + \frac{RT}{nF} \ln K \end{aligned} \quad (22-9)$$

El último término de esta ecuación es una constante llamada *potencial estándar de electrodo*, E_{cel}^0 de la celda. Esto es

$$E_{\text{cel}}^0 = \frac{RT}{nF} \ln K \quad (22-10)$$

La sustitución de la Ecuación 22-10 en la Ecuación 22-9 da

$$E_{\text{cel}} = E_{\text{cel}}^0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{(a_{\text{H}^+})_i^2 (a_{\text{Cl}^-})_i^2}{(p_{\text{H}_2})_i} \quad (22-11)$$

Obsérvese que el potencial estándar es igual al *potencial de la celda cuando los reactantes y los productos tienen una actividad y presión iguales a la unidad*.

La Ecuación 22-11 es una forma de la *ecuación de Nernst*, llamada así en honor al físico químico alemán y premio nóbel en 1920 Walther Nernst (1864-1941). Esta ecuación encuentra una gran aplicación en química electroanalítica.

22B-2. Potenciales de unión líquida

Cuando se ponen en contacto dos disoluciones de electrólito de diferente composición, se desarrolla un potencial a través de la interfase. Este *potencial de unión* proviene de la desigual distribución de los cationes y los aniones en la superficie de contacto debido a las diferencias en las velocidades a las que difunden estas especies.

Considérese la unión líquida en el sistema



Ambos iones hidrógeno y cloruro tienden a difundir a través de esta superficie de contacto desde la disolución más concentrada a la más diluida, siendo la fuerza conductora de este movimiento proporcional a la diferencia de concentraciones. La velocidad a la cual varios iones difunden por la influencia de una fuerza constante varía considerablemente (esto es, las *movilidades* son diferentes). En este ejemplo, la movilidad de los iones hidrógeno es varias veces superior a la de los iones cloruro. En consecuencia, existe una tendencia en los iones hidrógeno a difundir más rápido que los iones cloruro; el resultado final es una separación de carga (véase Fig. 22-4). El lado más diluido de la superfi-

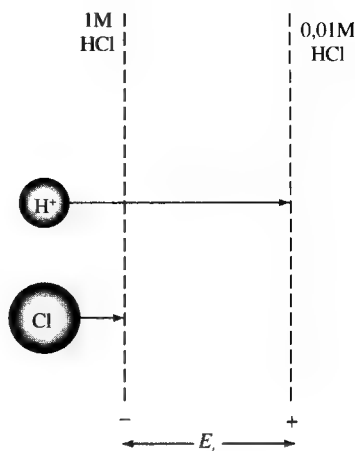


Figura 22-4. Representación esquemática de una unión líquida que muestra el origen del potencial de unión E_j . La longitud de las flechas guarda relación con la movilidad relativa de los dos iones.

cie de contacto se carga positivamente debido a la difusión más rápida de los iones hidrógeno; el lado más concentrado, por tanto, adquiere una carga negativa por el exceso de iones cloruro, que se mueven más lentamente. La carga que se desarrolla tiende a contrarrestar las diferencias en las movilidades de los dos iones, y, en consecuencia, pronto se alcanza el equilibrio. La diferencia de potencial de unión que resulta de esta separación de cargas puede alcanzar los 30 mV o incluso más.

En un sistema sencillo tal como el que se muestra en la Figura 22-4, la magnitud del potencial de unión se puede calcular a partir del conocimiento de las movilidades de los dos iones implicados. Sin embargo, es raro que una celda de interés analítico tenga una composición tan simple como para permitir tal cálculo³.

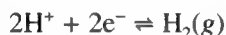
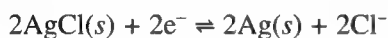
Se ha encontrado experimentalmente que la magnitud del potencial de unión se puede reducir mucho introduciendo una disolución concentrada de electrólito (un puente salino) entre las dos disoluciones. La eficacia del puente salino mejora no sólo a medida que crece la concentración de la sal sino también a medida que se aproximan entre sí los valores de las movilidades de los iones de la sal. Una disolución de cloruro de potasio saturada es particularmente eficaz desde ambos puntos de vista, al ser su concentración a temperatura ambiente

³ Para métodos de cálculo de potenciales de unión líquida, véase A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, páginas 62-72. New York: Wiley, 1980.

algo superior a 4 M, e igualmente importante, al diferir la movilidad de sus iones solo un 4 por 100. Cuando el ion cloruro interfiere, puede sustituirse por una solución concentrada de nitrato de potasio. Con tales puentes, el potencial de unión neto alcanza, por lo general, unos pocos milivoltios o incluso menos, una cantidad despreciable en muchas, pero no en todas las medidas analíticas.

22-C. POTENCIALES DE ELECTRODO

Es útil pensar en la reacción de una celda electroquímica como si estuviese formada por dos *reacciones de semi-celda*, cada una de las cuales tiene un *potencial de electrodo* característico asociado a ella. Como se verá más tarde, estos potenciales de electrodo miden la fuerza impulsora de las dos semirreacciones *cuando, por convenio, ambas se escriben como reducciones*. Así, las dos reacciones de semi-celda o de electrodo para la celda mostrada en la Figura 22-3 son



Supongamos ahora que se conocen los potenciales de electrodo E_{AgCl} y E_{H^+} para las dos semirreacciones. Para obtener la reacción de celda, la segunda semirreacción se resta de la primera para dar



De forma similar, el potencial de celda E_{cel} se obtiene restando el potencial de electrodo para la segunda reacción del de la primera. Esto es,

$$E_{\text{cel}} = E_{\text{AgCl}} - E_{\text{H}^+}$$

Una expresión más general de la última relación es

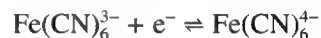
$$E_{\text{cel}} = E_{\text{cátodo}} - E_{\text{ánodo}} \quad (22-12)$$

donde $E_{\text{cátodo}}$ y $E_{\text{ánodo}}$ son los potenciales de electrodo para las semirreacciones catódica y anódica.

22C-1. Naturaleza de los potenciales de electrodo

El potencial de una celda electroquímica es la *diferencia* entre el potencial del cátodo y el del ánodo, y es importante tener una idea clara de lo que se quiere decir con potencial de un electrodo. Este po-

tencial es una medida de la energía de los electrones de un electrodo. Para un conductor metálico sumergido en una disolución de un electrolito, todo el exceso de carga reside *en su superficie*, y es posible ajustar la densidad de carga en su superficie regulando la salida de una fuente de alimentación externa unida al conductor. A medida que esta fuente externa fuerza a los electrones hacia la superficie del electrodo, los electrones están más apilados, y su energía crece debido a la repulsión coulombica. Se produce un aumento del potencial *negativo*. Si el circuito externo extrae suficientes electrones del electrodo, la superficie adquirirá una carga positiva, y se desarrollará un potencial positivo. También es posible variar la energía de los electrones y, por tanto, el potencial de un electrodo metálico, variando la composición de la disolución en la que está sumergido. Por ejemplo, hay un potencial en un electrodo de platino sumergido en una disolución que contiene ferrocianuro y ferricianuro como resultado del equilibrio



Si la concentración de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ se hace mucho mayor que la del $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$, aquél da electrones al metal, impartiendo una carga negativa a la superficie del metal. En esta circunstancia el potencial del electrodo es negativo. Por otra parte, si el $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ está presente en gran exceso, se arrancan electrones al electrodo, causando la formación de una capa superficial de iones en la disolución y dejando una carga positiva en la superficie del electrodo. Entonces el electrodo de platino presenta un potencial positivo.

Debería resaltarse que *no existe ningún método* para determinar el valor absoluto del potencial de un único electrodo, ya que todos los dispositivos para medir voltajes determinan sólo *diferencias* de potencial. Uno de los conductores de este dispositivo se conecta al electrodo en cuestión. Sin embargo, con el objeto de medir una diferencia de potencial, el segundo conductor debe ponerse en contacto con la disolución de electrolito de la semi-celda en cuestión. Este último contacto implica inevitablemente una interfase sólido-disolución y por tanto actúa como una segunda semi-celda en la cual *deberá también tener lugar* una reacción química si la carga ha de fluir. Se asociará un potencial con esta segunda reacción. Así, no se mide un valor absoluto para el potencial de semi-celda buscado; en lugar de eso, lo que se mide es la diferencia entre el

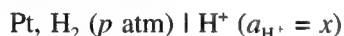
potencial de interés y el potencial de semi-celda para el contacto entre el dispositivo de medida del voltaje y la disolución.

Nuestra incapacidad para medir potenciales absolutos de procesos de semi-celda no es una seria desventaja, ya que son igualmente útiles los *potenciales de semi-celda relativos*, medidos frente a un electrodo de referencia común. Estos potenciales relativos pueden combinarse para dar potenciales de celda reales; además, se pueden utilizar para calcular constantes de equilibrio de procesos de oxidación/reducción.

Con el fin de elaborar una lista útil de potenciales de semi-celda relativos o potenciales de electrodo, es necesario tener un *electrodo de referencia* cuidadosamente definido, que sea aceptado por toda la comunidad química. El *electrodo estándar de hidrógeno* (SHE) o el *electrodo normal de hidrógeno* (ENH), constituye tal semi-celda.

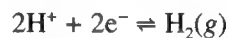
22C-2. Electrodo estándar de hidrógeno (SHE)

Los electrodos de gas hidrógeno fueron muy utilizados en los primeros estudios electroquímicos no sólo como electrodos de referencia sino también como electrodos indicadores para la determinación del pH. La composición de este tipo de electrodo puede representarse como



Como se sugiere por los términos entre paréntesis, el potencial en la superficie del platino depende de la actividad del ion hidrógeno en la disolución y de la presión parcial del hidrógeno utilizado para saturar la disolución.

La semi-celda mostrada en la parte izquierda de la Figura 22-5 ilustra los componentes de un electrodo de hidrógeno típico. El conductor se fabrica a partir de una lámina de platino que ha sido *platinizada*, un proceso en el que el metal se recubre con una capa de platino finamente dividido mediante una rápida reducción química o electroquímica del H_2PtCl_6 . El platino finamente dividido de la superficie del electrodo no refleja la luz a diferencia de lo que hace el electrodo de platino pulido, de forma que se nos muestra de color negro. Así, el platino finamente dividido se denomina *negro de platino*. El negro de platino proporciona un área superficial grande para asegurar que la reacción



proceda rápidamente en la superficie del electrodo. Como se señaló anteriormente, la corriente de hidrógeno sirve simplemente para mantener la disolución adyacente al electrodo saturada de este gas.

El electrodo de hidrógeno puede actuar como un ánodo o como un cátodo, dependiendo de la semi-celda con la que se acople por medio del puente salino mostrado en la Figura 22-5. Cuando el electrodo es un ánodo el hidrógeno es oxidado a iones hidrógeno; la reacción inversa tiene lugar

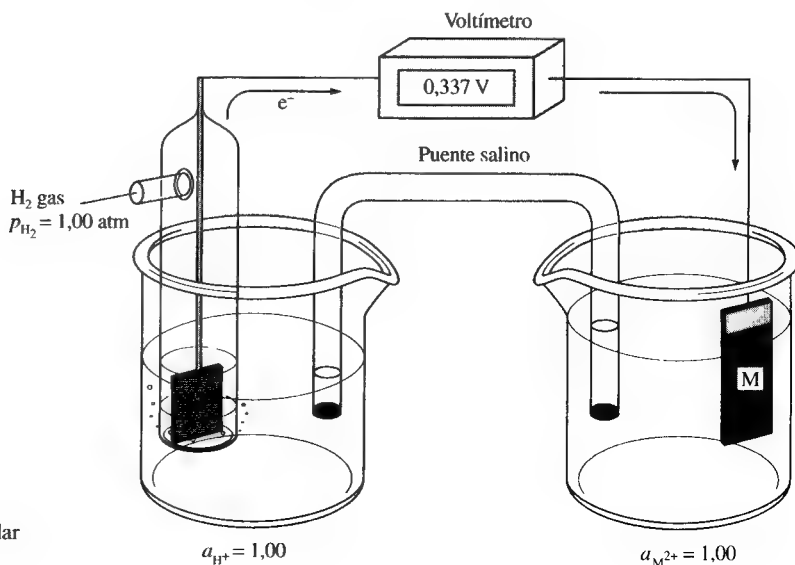


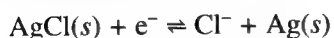
Figura 22-5. Definición de potencial estándar de electrodo para $\text{M}^{2+}(\text{ac}) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{M}(\text{s})$

cuando es un cátodo. Entonces, bajo las condiciones adecuadas, el electrodo de hidrógeno es electroquímicamente reversible.

El potencial de un electrodo de hidrógeno depende de la temperatura, de la actividad del ion hidrógeno en la disolución y de la presión del hidrógeno en la superficie del electrodo. Los valores de estas variables experimentales deben ser cuidadosamente definidos con el fin de que la semi-celda sirva de referencia. Las especificaciones para el *electrodo estándar de hidrógeno* son una actividad del ion hidrógeno igual a la unidad y una presión parcial de hidrógeno exactamente de una atmósfera. *Por convenio, al potencial de este electrodo se le asigna el valor de exactamente cero voltios a todas las temperaturas.*

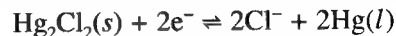
22C-3. Electrodo de referencia prácticos

Aunque el electrodo estándar de hidrógeno es de gran importancia desde el punto de vista fundamental, la dificultad de preparar la superficie del electrodo y de controlar las actividades de los reactivos lo hacen suficientemente poco práctico por lo que rara vez es utilizado por los químicos para medidas rutinarias. En cambio, electrodos de referencia sencillos de construir, más robustos, y más fáciles de utilizar, sustituyen normalmente al electrodo de gas hidrógeno. Uno de los más comunes entre éstos es el electrodo de plata/cloruro de plata. Este electrodo se puede fabricar mediante la aplicación de un potencial oxidante a un alambre de plata sumergido en una disolución diluida de ácido clorhídrico. Se forma una delgada capa de cloruro de plata que se adhiere fuertemente al alambre. El alambre se introduce a continuación en una disolución saturada de cloruro de potasio. Un puente salino conecta la disolución de cloruro de potasio al sistema electródico en estudio. El potencial de este electrodo es de alrededor de 0,2 V positivo con respecto al electrodo estándar de hidrógeno. La semirreacción de electrodo es



Un segundo electrodo de referencia ampliamente utilizado es el electrodo de calomelanos saturado (ECS), que consiste en una piscina de mercurio en contacto con una disolución que está saturada de cloruro de mercurio(I) (calomelanos) y de cloruro de potasio. Un alambre de platino su-

mergido en el mercurio proporciona el contacto eléctrico para el otro conductor y un puente salino hasta el segundo electrólito completa el circuito. El potencial de esta referencia es de alrededor de 0,24 V positivo. La reacción de electrodo es

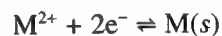


Se encontrará una descripción más detallada de los sistemas de electrodo de referencia plata/cloruro de plata y calomelanos en el Apartado 23A.

22C-4 Definición de potencial de electrodo

Los potenciales de electrodo se *definen* como *potenciales de celda* para una celda que se compone del electrodo en cuestión *actuando de cátodo* y del electrodo estándar de hidrógeno *actuando de ánodo*. Se debería enfatizar que, a pesar de su nombre, un potencial de electrodo es, de hecho, el potencial de una *celda* electroquímica que contiene como ánodo un electrodo de referencia cuidadosamente definido. Podría llamarse más correctamente «potencial de electrodo relativo» (pero raramente se hace). Adviértase que esta celda puede ser galvánica o electrolítica dependiendo de la energía de los electrones del electrodo en cuestión. Así, cuando esta energía es mayor que la del electrodo estándar de hidrógeno, el potencial del electrodo será negativo; cuando la energía de los electrones del electrodo en cuestión es menor que la del electrodo estándar de hidrógeno, el potencial será positivo.

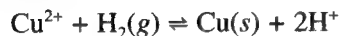
La celda de la Figura 22-5 ilustra la definición de potencial de electrodo para la semirreacción



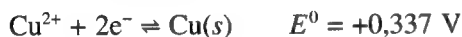
Aquí, la semi-celda de la derecha (el cátodo) consiste en una lámina del metal M en contacto con una disolución de M^{2+} . La semi-celda de la izquierda (el ánodo) es un electrodo estándar de hidrógeno. Por definición, el potencial E observado en el dispositivo de medida de voltaje es el potencial de electrodo de la pareja M/M^{2+} . Aquí se supone que los potenciales de unión a través del puente salino son cero. Si además suponemos que la actividad del M^{2+} en la disolución es exactamente 1,00, el potencial se llama *potencial estándar de electrodo* para el sistema y se le representa por el símbolo E^0 . Esto es, el potencial estándar de electrodo para una semirreacción es

el potencial de electrodo cuando los reactantes y productos tienen todos la actividad unidad.

Si M en la figura es cobre, y si la actividad del ion cobre en la disolución es 1,00, el compartimento de la derecha se comporta como cátodo de la celda galvánica, y el potencial observado es +0,337 V, tal como se muestra en la figura. La reacción espontánea de la celda es



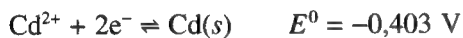
Debido a que el electrodo de cobre es el cátodo, el potencial medido es, *por definición*, el potencial de electrodo para la semi-celda Cu/Cu^{2+} . Obsérvese que el electrodo de cobre es positivo con respecto al electrodo de hidrógeno; esto es, los electrones fluyen en el circuito externo desde el ánodo de hidrógeno negativo al cátodo de cobre. Por esta razón, el potencial de electrodo viene dado con signo positivo, y escribimos



Si M en la Figura 22-5 fuese cadmio en lugar de cobre y la disolución tuviese una actividad de ion cadmio de 1,00, el potencial observado sería -0,403 V. En este caso, el cadmio actuaría como el ánodo de la celda galvánica por lo que los electrones fluirían desde el electrodo de cadmio al de hidrógeno. Por esta razón, se le asigna al potencial un signo negativo. La reacción espontánea de celda es

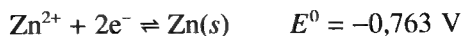
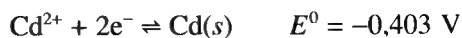
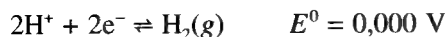
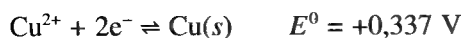


y se debe escribir



Un electrodo de cinc en una disolución de ion cinc de actividad unidad presenta un potencial de -0,763 V cuando se acopla con el electrodo estándar de hidrógeno. Debido a que es el ánodo en la celda galvánica, su potencial de electrodo es también negativo.

Los potenciales estándar de electrodo de las cuatro semi-celdas antes descritas se pueden disponer en el orden



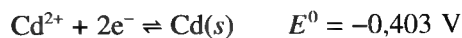
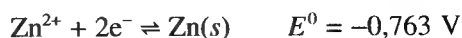
Las magnitudes de estos potenciales estándar de electrodo muestran las fuerzas relativas de las cuatro especies iónicas como aceptores de electrones (agentes oxidantes); esto es, en fuerzas decrecientes como agentes oxidantes: $\text{Cu}^{2+} > \text{H}^+ > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$.

22C-5. Convenio de signos para los potenciales de electrodo

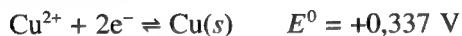
Quizás no es sorprendente que la elección del signo de los potenciales de electrodo haya dado lugar a una gran controversia y confusión a lo largo del desarrollo de la electroquímica. En 1953, La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), reunida en Estocolmo, intentó resolver la controversia. El convenio de signos adoptado en esta reunión se llama, a veces, convenio de la IUPAC o de Estocolmo; es el convenio de signos utilizado por la mayoría de los químicos en la actualidad.

Cualquier convenio de signos se debe basar en los procesos de semi-celda escritos de manera única, esto es, todos como oxidaciones o todos como reducciones. De acuerdo con el convenio de la IUPAC, el término *potencial de electrodo* (o más exactamente, *potencial de electrodo relativo*) se reserva exclusivamente para semirreacciones escritas como reducciones. No hay objeción a la utilización del término *potencial de oxidación* para indicar un proceso de electrodo escrito en sentido opuesto, pero *a un potencial de oxidación nunca se le debería llamar potencial de electrodo*.

El signo del potencial de electrodo se determina por el signo real del electrodo de interés cuando se acopla con el electrodo estándar de hidrógeno en una celda galvánica. Así, un electrodo de cinc o de cadmio se comportará como un ánodo del que los electrones fluirán a través del circuito externo al electrodo estándar de hidrógeno. Estos electrodos metálicos son por tanto las terminales negativas de las correspondientes celdas galvánicas, y a sus potenciales de electrodo se les *asigna* valores negativos. Así,



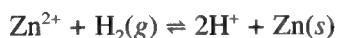
Por otra parte, al potencial del electrodo de cobre se le da un signo positivo porque el cobre se comporta como cátodo en una celda galvánica construida a partir de este electrodo y del electrodo de hidrógeno; los electrones fluyen hacia el electrodo de cobre a través del circuito externo. Es así la terminal positiva de la celda galvánica y, para el cobre, debemos escribir



Es importante volver a resaltar que los potenciales de electrodo y sus signos se refieren a semirreacciones *escritas como reducciones*. Tanto el cinc como el cadmio son oxidados por el ion hidrógeno; las reacciones espontáneas son por tanto oxidaciones. Es evidente, entonces, que el *signo del potencial de electrodo indicará si la reducción es o no espontánea con respecto al electrodo estándar de hidrógeno*. Por tanto, el signo positivo del potencial del electrodo de cobre significa que la reacción



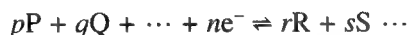
evolucionará hacia la derecha en condiciones normales. Por otra parte, el potencial negativo del electrodo de cinc, significa que la reacción análoga



no tiene lugar normalmente a menos que se la fuerce mediante la aplicación de un potencial externo; de hecho, el equilibrio favorece a las especies de la izquierda.

22C-6. Efecto de la actividad en el potencial de electrodo

Consideremos la semirreacción



donde las letras mayúsculas representan las fórmulas de las especies reaccionantes (ya estén cargadas o sin carga), e^- representa el electrón, y las letras minúsculas indican el número de moles de cada especie (incluyendo los electrones) que participan en la reacción de semi-celda. Empleando los mismos argumentos que se utilizaron en el caso de la celda de plata/cloruro de plata en el Apartado 22B-1, se obtiene

$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{(a_{\text{R}})_i^r \cdot (a_{\text{S}})_i^s \dots}{(a_{\text{P}})_i^p \cdot (a_{\text{Q}})_i^q \dots}$$

A temperatura ambiente (298 K), el grupo de constantes junto al término logarítmico tiene unidades de julios por culombio o voltios. Por tanto,

$$\begin{aligned} \frac{RT}{nF} &= \frac{8,316 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1} \times 298 \text{ K}}{n \times 96.487 \text{ C mol}^{-1}} \\ &= \frac{2,568 \times 10^{-2} \text{ J C}^{-1}}{n} = \frac{2,568 \times 10^{-2}}{n} \text{ V} \end{aligned}$$

Pasando los logaritmos neperianos a decimales mediante la multiplicación por 2,303, la ecuación anterior puede escribirse como

$$E = E^0 - \frac{0,0592}{n} \log \frac{(a_{\text{R}})^r \cdot (a_{\text{S}})^s \dots}{(a_{\text{P}})^p \cdot (a_{\text{Q}})^q \dots} \quad (22-13)$$

Por comodidad, hemos eliminado los subíndices *i*, que fueron introducidos con anterioridad como recordatorio de que los términos entre paréntesis representan concentraciones no en el equilibrio. A partir de ahora, *no se utilizarán subíndices*; no obstante, el estudiante deberá tener en cuenta que los cocientes que aparecen en este tipo de ecuación *no son constantes de equilibrio*, a pesar de su aparente semejanza.

La Ecuación (22-13) es una expresión general de la *ecuación de Nernst*, que puede aplicarse tanto a reacciones de semi-celda como a reacciones de celda.

22C-7. Potencial estándar de electrodo, E^0

Un examen de la Ecuación 22-13 revela que la constante E^0 es igual al potencial de semi-celda cuando el término logarítmico es cero. Esta condición se cumple siempre que el cociente de actividades es igual a la unidad, uno de tales casos es cuando las actividades de todos los reactivos y productos son la unidad. Por tanto, el potencial estándar se define a menudo como el potencial de electrodo de una reacción de semi-celda (vs. SHE) cuando la actividad de todos los reactantes y productos presentes es la unidad.

El potencial estándar de electrodo es una constante física importante que proporciona una descripción cuantitativa de la fuerza impulsora relativa de una reacción de semi-celda. Se deberán recordar cuatro hechos relacionados con esta cons-

tante. (1) El potencial de electrodo depende de la temperatura, y si esta dependencia es significativa debe especificarse la temperatura a la que se le ha determinado. (2) El potencial estándar de electrodo es una cantidad relativa en el sentido de que es, en realidad, el potencial de una celda electroquímica en la que el ánodo es un electrodo de referencia cuidadosamente especificado —el electrodo estándar de hidrógeno— a cuyo potencial se le *asigna* un valor de cero voltios. (3) El signo de un potencial estándar es idéntico al del conductor en contacto con la semi-celda de interés en una celda galvánica, la otra mitad de la cual es el electrodo estándar de hidrógeno. (4) El potencial estándar es una medida de la fuerza impulsora de una semirreacción. Como tal, es independiente de la notación empleada para expresar el proceso de semi-celda. Así, el potencial para el proceso



aunque depende de la concentración de los iones plata, es el mismo independientemente de si se escribe la semirreacción como antes o como



Para estar seguros, podemos ver que la ecuación de Nernst es coherente con la semirreacción con independencia de cómo haya sido escrita. Para la primera de éstas será

$$E = 0,799 - \frac{0,0592}{1} \log \frac{1}{a_{\text{Ag}^+}}$$

y para la segunda

$$\begin{aligned} E &= 0,799 - \frac{0,0592}{100} \log \frac{1}{(a_{\text{Ag}^+})^{100}} \\ &= 0,799 - \frac{0,0592}{100} \left[100 \log \frac{1}{a_{\text{Ag}^+}} \right] \end{aligned}$$

Se dispone de los potenciales estándar de electrodo para numerosas semirreacciones. Muchos se han determinado directamente a partir de las medidas de los potenciales de celdas en las que un electrodo de referencia de hidrógeno o de otro tipo constituía la otra mitad de la celda. Sin embargo, es

TABLA 22-1. Potenciales estándar de electrodo*

Reacción	E^0 a 25°C, V
$\text{Cl}_2(\text{g}) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Cl}^-$	+1,359
$\text{O}_2(\text{g}) + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{H}_2\text{O}$	+1,229
$\text{Br}_2(\text{ac}) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Br}^-$	+1,087
$\text{Br}_2(\text{l}) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Br}^-$	+1,065
$\text{Ag}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ag(s)}$	+0,799
$\text{Fe}^{3+} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+}$	+0,771
$\text{I}_3^- + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 3\text{I}^-$	+0,536
$\text{Cu}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Cu(s)}$	+0,337
$\text{Hg}_2\text{Cl}_2(\text{s}) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Hg(l)} + 2\text{Cl}^-$	+0,268
$\text{AgCl(s)} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ag(s)} + \text{Cl}^-$	+0,222
$\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ag(s)} + 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	+0,010
$2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_2(\text{g})$	0,000
$\text{AgI(s)} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ag(s)} + \text{I}^-$	-0,151
$\text{PbSO}_4(\text{s}) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Pb(s)} + \text{SO}_4^{2-}$	-0,350
$\text{Cd}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Cd(s)}$	-0,403
$\text{Zn}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Zn(s)}$	-0,763

* Para una lista más extensa véase el Apéndice 3.

posible calcular los valores de E^0 a partir de estudios de equilibrios de sistemas de oxidación/reducción y a partir de datos termodinámicos relativos a tales reacciones. Muchos de los datos encontrados en la bibliografía se obtuvieron así⁴.

Con fines ilustrativos, en la Tabla 22-1 se dan algunos potenciales estándar de electrodo; en el Apéndice 3 se encuentra una tabla más extensa. Las especies situadas en la parte superior y a la izquierda de las ecuaciones de la Tabla 22-1, son las más fácilmente reducibles, tal como indican los elevados valores positivos de E^0 ; son, por tanto, los agentes oxidantes más efectivos. Siguiendo hacia abajo en el lado izquierdo de la tabla, cada especie es un aceptor de electrones menos efectivo que la anterior a ella. Las reacciones de semi-celda

⁴ Fuentes extensas de potenciales estándar de electrodo se incluyen en *Standard Electrode Potentials in Aqueous Solutions*, A. J. Bard, R. Parsons, y J. Jordan, Eds. New York: Marcel Dekker, 1985; G. Milazzo y S. Caroli, *Tables of Standard Electrode Potentials*. New York: Wiley-Interscience, 1977; M. S. Antelman y F. J. Harris, *Chemical Electrode Potentials*. New York: Plenum Press, 1982. Algunas recopilaciones están ordenadas por el orden alfabético del elemento; otras están tabuladas de acuerdo con el valor de E^0 .

de la parte inferior de la tabla tienen poca tendencia a producirse tal como están escritas. Por otra parte, tienden a tener lugar en sentido contrario, como oxidaciones. Los agentes reductores más eficaces son, por tanto, aquellas especies que aparecen en el lado derecho de las ecuaciones en la parte inferior de la tabla.

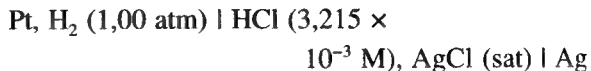
Una recopilación de los potenciales estándar proporciona al químico información referente a la extensión y sentido de las reacciones de transferencia de electrones entre las especies tabuladas. Por ejemplo, según la Tabla 22-1, vemos que el cinc es más fácilmente oxidable que el cadmio, y se deduce que un trozo de cinc sumergido en una disolución de iones cadmio provocaría la deposición de cadmio metálico; a la inversa, el cadmio tiene poca tendencia a reducir a los iones cinc. La Tabla 22-1 también muestra que el hierro(III) es mejor agente oxidante que el ion triyoduro; por tanto, se puede predecir que en una disolución que contiene una mezcla en equilibrio de hierro(III), yoduro, hierro(II), e iones triyoduro, predominará el último par.

22C-8. Medida de los potenciales de electrodo

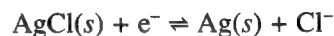
Aunque el electrodo estándar de hidrógeno es el patrón universal de referencia, se entiende que el electrodo, tal como se describe, no puede construirse en el laboratorio; es un electrodo *hipotético* al que los potenciales determinados experimentalmente se pueden referenciar sólo mediante el cálculo adecuado. La razón por la que el electrodo, tal como se define, no puede prepararse es que los químicos desconocen cómo preparar una disolución con una actividad de ion hidrógeno exactamente igual a la unidad; no existe una teoría adecuada que permita la evaluación del coeficiente de actividad de los iones hidrógeno en una disolución en la que la fuerza iónica sea tan elevada como la unidad, tal como exige la definición (véase el Apéndice 2). Así, no se puede calcular la concentración de HCl o de otro ácido requerida para dar una actividad uno de ion hidrógeno. No obstante, se pueden utilizar datos de disoluciones más diluidas de ácidos, donde los coeficientes de actividad son conocidos, para calcular potenciales *hipotéticos* a actividad unidad. El ejemplo que sigue ilustra cómo pueden obtenerse de esta manera los potenciales estándar.

EJEMPLO 22-1

D. A. MacInnes⁵ encontró que una celda similar a la mostrada en la Figura 22-3 desarrollaba un potencial de 0,52053 V. La celda se describe por



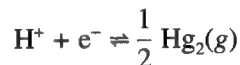
Calcular el potencial estándar de electrodo para la semirreacción



Aquí, el potencial de electrodo para el cátodo es

$$E_{\text{cátodo}} = E_{\text{AgCl}}^0 - 0,0592 \log a_{\text{Cl}^-} = E_{\text{AgCl}}^0 - 0,0592 \log \gamma_{\text{Cl}^-} \cdot c_{\text{HCl}}$$

donde γ_{Cl^-} es el coeficiente de actividad del Cl^- . La segunda reacción de semi-celda es



y

$$\begin{aligned} E_{\text{ánodo}} &= E_{\text{H}_2}^0 = \frac{0,0592}{1} \log \frac{p_{\text{H}_2}^2}{a_{\text{H}^+}} \\ &= E_{\text{H}_2}^0 = \frac{0,0592}{1} \log \frac{p_{\text{H}_2}^2}{\gamma_{\text{H}^+} \cdot c_{\text{HCl}}} \end{aligned}$$

El potencial medido es la diferencia entre estos potenciales (Ecuación 22-12):

$$E_{\text{cel}} = (E_{\text{AgCl}}^0 - 0,0592 \log \gamma_{\text{Cl}^-} \cdot c_{\text{HCl}}) - \left(0,000 - 0,0592 \log \frac{p_{\text{H}_2}^{1/2}}{\gamma_{\text{H}^+} \cdot c_{\text{HCl}}} \right)$$

Combinando los dos términos logarítmicos da

$$E_{\text{cel}} = E_{\text{AgCl}}^0 - 0,0592 \log \frac{\gamma_{\text{H}^+} \cdot \gamma_{\text{Cl}^-} \cdot c_{\text{HCl}}^2}{p_{\text{H}_2}^{1/2}}$$

Los coeficientes de actividad del H^+ y del Cl^- pueden calcularse a partir de la Ecuación a2-3 (Apén-

⁵ D. A. MacInnes, *The Principles of Electrochemistry*, página 187. New York: Reinhold, 1939.

dice 2) tomando $3,215 \times 10^{-3}$ para la fuerza iónica μ ; estos valores son 0,945 y 0,939, respectivamente. La sustitución de estos coeficientes de actividad y de los datos experimentales en las ecuaciones anteriores, da, después de reordenar,

$$E_{\text{AgCl}}^0 = 0,5203 + 0,0592 \log \frac{(3,215 \times 10^{-3})^2 (0,945)(0,939)}{1,00^{1/2}}$$

$$= 0,2223 \approx 0,222 \text{ V}$$

(La media, para esta medida y medidas similares a otras concentraciones de HCl fue 0,222 V.)

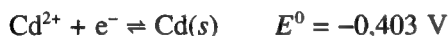
22C-9. Cálculo de los potenciales de semi-celda a partir de valores de E^0

Las aplicaciones típicas de la ecuación de Nernst al cálculo de potenciales de semi-celda se ilustran en los siguientes ejemplos.

EJEMPLO 22-2

¿Cuál es el potencial de electrodo de una semi-celda que consta de un electrodo de cadmio sumergido en una disolución 0,0150 M de Cd^{2+} ?

En la Tabla 22-1 se encuentra



Supondremos que $a_{\text{Cd}^{2+}} \approx [\text{Cd}^{2+}]$ y escribimos

$$E = E^0 - \frac{0,0592}{2} \log \frac{1}{[\text{Cd}^{2+}]}$$

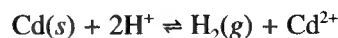
Sustituyendo la concentración de Cd^{2+} en esta ecuación se obtiene

$$E = -0,403 - \frac{0,0592}{2} \log \frac{1}{0,0150}$$

$$= -0,457 \text{ V}$$

El signo del potencial obtenido del cálculo anterior indica el sentido de la reacción cuando se acopla esta semi-celda con el electrodo estándar de

hidrógeno. El que sea negativo indica que la reacción



tiene lugar espontáneamente. Obsérvese que el potencial calculado es un número negativo mayor que el propio potencial estándar de electrodo. Esto se deduce de consideraciones basándose en la ley de masas debido a que la semirreacción, *tal como está escrita*, tiene menos tendencia a tener lugar a concentraciones más bajas de ion cadmio.

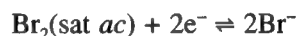
EJEMPLO 22-3

Calcular el potencial de un electrodo de platino sumergido en una disolución preparada saturando con Br_2 una disolución 0,0150 M de KBr.

Aquí, la semirreacción es



Nótese que el término (l) en la ecuación indica que la solución acuosa se mantiene saturada por la presencia de un exceso de Br_2 líquido. Así, el proceso global es la suma de dos equilibrios



Suponiendo que $[\text{Br}^-] = a_{\text{Br}^-}$, la ecuación de Nernst para el proceso global es

$$E = 1,065 - \frac{0,0592}{2} \log \frac{[\text{Br}^-]^2}{1,00}$$

Aquí, la actividad del Br_2 en el líquido puro es constante e igual a 1,00 por definición. Así,

$$E = 1,065 - \frac{0,0592}{2} \log (0,0150)^2$$

$$= 1,173 \text{ V}$$

EJEMPLO 22-4

Calcular el potencial de un electrodo de platino sumergido en una disolución que es 0,0150 M en KBr y $1,00 \times 10^{-3}$ M en Br_2 .

Aquí, la semirreacción utilizada en el ejemplo anterior *no se aplica debido a que la disolución ya no está saturada de Br₂*. Sin embargo, la Tabla 22-1 contiene la semirreacción



El término (ac) indica que todo el Br₂ presente está en disolución y que 1,087 V es el potencial de electrodo para la semirreacción cuando las actividades del Br⁻ y Br₂ en la *disolución* son 1,00 mol/L. Resulta, sin embargo, que la solubilidad del Br₂ en agua a 25 °C es sólo de aproximadamente 0,18 mol/L. Por lo tanto, el potencial registrado de 1,087 V se basa en un *sistema hipotético que no puede llevarse a cabo experimentalmente*. Sin embargo, este potencial es útil porque proporciona el medio por el que se pueden calcular los potenciales de sistemas por debajo de la saturación. Así, si suponemos que las actividades de los solutos son iguales a sus concentraciones molares, obtenemos

$$\begin{aligned} E &= 1,087 - \frac{0,0592}{2} \log \frac{[\text{Br}^-]^2}{[\text{Br}_2]} \\ &= 1,087 - \frac{0,0592}{2} \log \frac{(1,50 \times 10^{-2})^2}{1,00 \times 10^{-3}} \\ &= 1,106 \text{ V} \end{aligned}$$

Aquí, la actividad del Br₂ es $1,00 \times 10^{-3}$ en vez de 1,00, como era el caso cuando la disolución era saturada y estaba presente un exceso de Br₂(l).

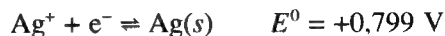
22C-10. Potenciales de electrodo en presencia de reactivos de precipitación y formadores de complejos

Como se muestra en el siguiente ejemplo, los reactivos que reaccionan con los participantes en un proceso electródico tienen un acusado efecto sobre el potencial de ese proceso.

EJEMPLO 22-5

Calcular el potencial de un electrodo de plata en una disolución que está saturada con yoduro de

plata y que tiene una actividad de ion yoduro de exactamente 1,00 (K_{ps} para el AgI = $8,3 \times 10^{-17}$).



$$E = +0,799 - 0,0592 \log \frac{1}{a_{\text{Ag}^+}}$$

Se puede calcular a_{Ag^+} a partir de la constante del producto de solubilidad. Así,

$$a_{\text{Ag}^+} = \frac{K_{\text{ps}}}{a_{\text{I}^-}}$$

Sustituyendo en la ecuación de Nernst se obtiene

$$E = +0,799 - \frac{0,0592}{1} \log \frac{a_{\text{I}^-}}{K_{\text{ps}}}$$

Esta ecuación puede reescribirse como

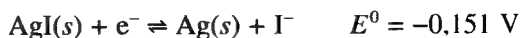
$$E = +0,799 + 0,0592 \log K_{\text{ps}} - 0,0592 \log a_{\text{I}^-} \quad (22-14)$$

Si sustituimos a_{I^-} por 1,00 y utilizamos $8,3 \times 10^{-17}$ para el K_{ps} , el producto de solubilidad del AgI a 25 °C, obtenemos

$$\begin{aligned} E &= +0,799 + 0,0592 \log 8,3 \times 10^{-17} - \\ &\quad 0,0592 \log 1,00 \\ &= -0,151 \text{ V} \end{aligned}$$

Este ejemplo muestra que el potencial de semi-celda para la reducción del ion plata disminuye en presencia de iones yoduro. Cualitativamente éste es el efecto esperado debido a que la disminución en la concentración de los iones plata disminuye la tendencia a su reducción.

La Ecuación 22-14 relaciona el potencial de un electrodo de plata con la actividad del ion yoduro de una disolución que está también saturada de yoduro de plata. *Cuando la actividad del ion yoduro es la unidad*, el potencial es la suma de dos constantes; es, por tanto, el potencial estándar de electrodo para la semirreacción



donde

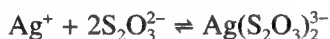
$$E_{\text{AgI}}^0 = +0,799 + 0,0592 \log K_{\text{ps}}$$

La relación de Nernst para el electrodo de plata en una disolución saturada con yoduro de plata puede entonces escribirse como

$$E = E^0 - 0,0592 \log a_{\text{I}^-} = -0,151 - 0,0592 \log a_{\text{I}^-}$$

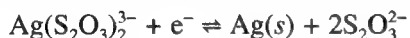
Por tanto, en contacto con una disolución *saturada de yoduro de plata*, el potencial del electrodo de plata puede describirse *tanto* en términos de la actividad del ion plata (con el potencial estándar de electrodo para la sencilla semirreacción de la plata) *como* en términos de la actividad del ion yoduro (con el potencial estándar de electrodo de la semirreacción plata/yoduro de plata). Esta última es normalmente más adecuada.

El potencial de un electrodo de plata en una disolución que contiene un ion que forma un complejo soluble con el ion plata puede tratarse de manera análoga al anterior. Por ejemplo, en una disolución que contiene iones tiosulfato y plata, tiene lugar la formación del complejo



$$K_f = \frac{a_{\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-}}}{a_{\text{Ag}^+} \cdot a_{\text{S}_2\text{O}_3^{2-}}^2}$$

donde K_f es la *constante de formación* del complejo. La semirreacción para un electrodo de plata en una disolución como ésta se puede escribir como



El potencial estándar de electrodo para esta semirreacción será el potencial de electrodo cuando el complejo y el anión complejante tengan ambos una actividad unidad. Utilizando el mismo enfoque que en el ejemplo precedente, encontramos que

$$E^0 = +0,799 + 0,0592 \log \frac{1}{K_f} \quad (22-15)$$

Los datos del potencial del electrodo de plata en presencia de iones seleccionados se dan en las tablas de potenciales estándar de electrodo en el Apéndice 3 y en la Tabla 22-1. También se proporciona una información similar para otros sistemas electródicos. Estos datos simplifican con frecuencia el cálculo de potenciales de semi-celda.

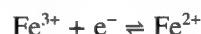
22C-11. Algunas limitaciones de la utilización de los potenciales estándar de electrodo

Los potenciales estándar de electrodo son de gran importancia en la comprensión de los procesos electroanalíticos. Hay, sin embargo, ciertas limitaciones inherentes al uso de estos datos que deben, sin duda, valorarse

Sustitución de actividades por concentraciones

Por razones de conveniencia se utilizan generalmente las concentraciones molares de las especies reactivas, en vez de las actividades, en los cálculos con la ecuación de Nernst. Por desgracia, la suposición de que estas dos cantidades son idénticas sólo es válida en disoluciones diluidas; con el aumento de las concentraciones de electrólito, puede esperarse que los potenciales calculados utilizando las concentraciones molares se alejen de los obtenidos experimentalmente.

Como ilustración, el potencial estándar de electrodo para la semirreacción



es +0,771 V. Sin tener en cuenta las actividades, se podría predecir que un electrodo de platino sumergido en una disolución que contiene 1 mol/L de cada uno de los iones Fe^{2+} y Fe^{3+} además de ácido perclórico, presentaría un potencial numéricamente igual a este valor respecto al electrodo estándar de hidrógeno. De hecho, sin embargo, se observa experimentalmente un potencial de +0,732 V cuando la concentración de ácido perclórico es 1 M. La razón de esta discrepancia se ve si escribimos la ecuación de Nernst en la forma

$$E = E^0 - 0,0592 \log \frac{\gamma_{\text{Fe}^{2+}}[\text{Fe}^{2+}]}{\gamma_{\text{Fe}^{3+}}[\text{Fe}^{3+}]}$$

donde $\gamma_{\text{Fe}^{2+}}$ y $\gamma_{\text{Fe}^{3+}}$ son los respectivos coeficientes de actividad. Los coeficientes de actividad de las dos especies son menores que la unidad en este sistema debido a la elevada fuerza iónica impuesta por el ácido perclórico y las sales de hierro. Más importante, sin embargo, es que el coeficiente de actividad del ion hierro(III) es menor que el del ion hierro(II). Como consecuencia, la relación de los coeficientes de actividad tal como aparecen en la ecuación de Nernst será superior a la unidad, y el

potencial de la semi-celda será más pequeño que el potencial estándar.

Los datos de coeficientes de actividad de los iones en disolución encontrados comúnmente en las valoraciones de oxidación/reducción y en el trabajo electroquímico son bastante limitados; en consecuencia, se deben utilizar las concentraciones molares en vez de las actividades en muchos cálculos. Pueden producirse errores importantes. No obstante, tales cálculos tienen aún valor, porque los cambios relativos en los valores están frecuentemente próximos a los correctos, y el sentido de los cambios será exacto.

Efectos de otros equilibrios

La aplicación de los potenciales estándar de electrodo se complica aún más por la presencia de reacciones de solvatación, disociación, asociación y formación de complejos que impliquen a las especies de interés. Se encuentra un ejemplo de este problema en el comportamiento del potencial de la pareja hierro(III)/hierro(II). Como se dijo anteriormente, una mezcla equimolar de estos dos iones en ácido perclórico 1 M tiene un potencial de electrodo de +0,73 V. La sustitución por ácido clorhídrico de la misma concentración cambia el potencial observado hasta +0,70 V; en ácido fosfórico 1 M se observa un valor de +0,6 V. Estas diferencias se originan porque el hierro(III) forma complejos más estables con iones cloruro y fosfato que el hierro(II). Como resultado, la concentración de real de hierro(III) no complejado en tales disoluciones es menor que la del hierro(II) no complejado, y el efecto neto es un desplazamiento en el potencial observado.

Estos fenómenos sólo pueden ser tomados en cuenta si se conocen los equilibrios implicados y se dispone de las constantes de los procesos. Con frecuencia, sin embargo, falta tal información; el químico está forzado entonces a despreciar tales efectos y esperar que no aparezcan errores serios en los resultados calculados.

Potenciales formales

Con objeto de compensar parcialmente los efectos de la actividad y los errores resultantes de reacciones laterales, tales como las descritas en el apartado previo, Swift propuso sustituir el potencial estándar de electrodo por una cantidad llamada *potencial formal* E^0 en los cálculos de óxido/re-

ducción⁶. El potencial formal de un sistema es el potencial de la semi-celda con respecto al electrodo estándar de hidrógeno cuando las *concentraciones* de reactantes y productos son 1 M y están cuidadosamente especificadas las concentraciones de cualquier otro constituyente de la disolución. Así, por ejemplo, el potencial formal para la reducción del hierro(III) es +0,732 V en ácido perclórico 1 M y +0,700 V en ácido clorhídrico 1 M. La utilización de estos valores en lugar del potencial estándar de electrodo en la ecuación de Nernst proporcionará mejor concordancia entre los potenciales calculados y los experimentales, siempre que la concentración de electrólito de la disolución se aproxime a aquella en que se midió el potencial formal. La aplicación de los potenciales formales a sistemas que difieren mucho en el tipo y concentración de electrolito puede, sin embargo, conducir a errores mayores que los encontrados con la utilización de los potenciales estándar. La tabla del Apéndice 3 contiene potenciales formales seleccionados, así como potenciales estándar; en los capítulos siguientes, emplearemos el que sea más apropiado.

Velocidades de reacción

Hay que resaltar que la presencia de una semirreacción en una tabla de potenciales de electrodo no implica necesariamente que exista un electrodo real cuyo potencial responda a la semirreacción. Muchos de los datos de tales tablas se han obtenido de cálculos basados en equilibrios o en medidas termodinámicas en vez de a partir de la medida real del potencial de un sistema electródico. Para algunas semirreacciones no se conoce ningún electrodo adecuado; así, el potencial estándar de electrodo para el proceso,



se ha calculado indirectamente. La reacción electródica no es reversible, y la velocidad a la que el dióxido de carbono se combina para dar ácido oxálico es insignificante. No se conoce ningún sistema electródico cuyo potencial varíe de la forma esperada con la relación de las actividades de reactantes y productos. A pesar de todo, el potencial es útil para cálculos.

⁶ E. H. Swift, *A System of Chemical Analysis*, pág. 50. San Francisco: Freeman, 1939.

22D. CÁLCULO DE LOS POTENCIALES DE CELDA A PARTIR DE LOS POTENCIALES DE ELECTRODO

Una aplicación importante de los potenciales estándar de electrodo es el cálculo del potencial que se puede obtener de una celda galvánica o el potencial requerido para operar en una celda electrolítica. Estos potenciales calculados (a veces llamados *potenciales termodinámicos*) son teóricos en el sentido de que se refieren a celdas en las que prácticamente no hay paso de corriente; cuando hay paso de corriente en la celda se deben tener en cuenta factores adicionales. Más aún, éstos no tienen en cuenta los potenciales de unión dentro de la celda. Normalmente, éstos son suficientemente pequeños para poder despreciarlos sin serio error.

Como se vio anteriormente (Ecuación 22-12), la fuerza electromotriz de una celda se obtiene por combinación de los potenciales de semi-celda tal como sigue:

$$E_{\text{cel}} = E_{\text{cátodo}} - E_{\text{ánodo}}$$

donde $E_{\text{ánodo}}$ y $E_{\text{cátodo}}$ son los potenciales de electrodo para las dos semirreacciones que constituyen la celda.

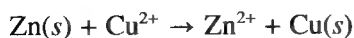
Considérese la celda hipotética



El proceso global de celda implica la oxidación del cinc elemental a cinc(II) y la reducción del cobre(II) al estado metálico. Debido a que las actividades de los dos iones están especificadas como iguales a la unidad, los potenciales estándar son también los potenciales de electrodo. El diagrama de celda también especifica que el electrodo de cinc es el ánodo. Así, utilizando los datos de E^0 de la Tabla 22-1,

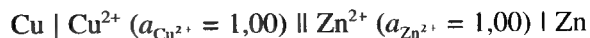
$$E_{\text{cel}} = +0,337 - (-0,763) = +1,100 \text{ V}$$

El signo positivo para el potencial de celda indica que la reacción



tiene lugar espontáneamente y que ésta es una celda galvánica.

La celda anterior, representada como



implica que el electrodo de cobre es ahora el ánodo. Así,

$$E_{\text{cel}} = -0,763 - (+0,337) = -1,100 \text{ V}$$

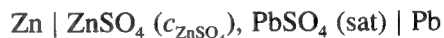
El signo negativo indica la no espontaneidad de la reacción



Se requiere la aplicación de un potencial externo mayor de 1,100 V para hacer que esta reacción tenga lugar.

EJEMPLO 22-6

Calcular los potenciales para la siguiente celda empleando (a) concentraciones y (b) actividades:

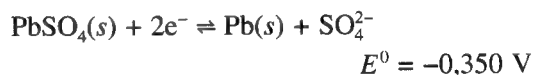


donde $c_{\text{ZnSO}_4} = 5,00 \times 10^{-4}$; $2,00 \times 10^{-3}$; $1,00 \times 10^{-2}$; $2,00 \times 10^{-2}$ y $5,00 \times 10^{-2}$.

(a) En una solución neutra se formará poco HSO_4^- ; por tanto, se puede suponer que

$$[\text{SO}_4^{2-}] = c_{\text{ZnSO}_4} = 5,00 \times 10^{-4}$$

Las semirreacciones y los potenciales estándar son



El potencial del electrodo de plomo viene dado por

$$\begin{aligned} E_{\text{Pb}} &= -0,350 - \frac{0,0592}{2} \log 5,00 \times 10^{-4} \\ &= -0,252 \text{ V} \end{aligned}$$

La concentración de ion cinc es también $5,00 \times 10^{-4}$ y

$$E_{\text{Zn}} = -0,763 - \frac{0,0592}{2} \log \frac{1}{5,00 \times 10^{-4}}$$

$$= -0,860 \text{ V}$$

Puesto que se especifica que el electrodo de Pb es el cátodo,

$$E_{\text{cel}} = -0,252 - (-0,860) = 0,608 \text{ V}$$

Los potenciales de celda a las otras concentraciones se pueden calcular de la misma manera. Sus valores se dan en la columna (a) de la Tabla 22-2.

- (b) Para obtener los coeficientes de actividad del Zn^{2+} y del SO_4^{2-} se debe calcular primero la fuerza iónica con ayuda de la Ecuación a2-2 (Apéndice 2). Aquí, suponemos que las concentraciones de Pb^{2+} , H^+ , y OH^- son despreciables con respecto a las concentraciones de Zn^{2+} y SO_4^{2-} . Así, la fuerza iónica es

$$\mu = \frac{1}{2} [5,00 \times 10^{-4} \times (2)^2 + 5,00 \times 10^{-4} \times (2)^2]$$

$$= 2,00 \times 10^{-3}$$

En la Tabla a2-1, encontramos para el SO_4^{2-} , $\alpha_A = 0,4$ y para el $\text{Zn}^{2+} = 0,6$. Sustituyendo estos valores en la Ecuación a2-3 se obtiene para el ion sulfato

$$-\log \gamma_{\text{SO}_4} = \frac{0,509 \times 2^2 \times \sqrt{2,00 \times 10^{-3}}}{1 + 3,28 \times 0,4 \sqrt{2,00 \times 10^{-3}}}$$

$$= 8,59 \times 10^{-2}$$

$$\gamma_{\text{SO}_4} = 0,820$$

$$a_{\text{SO}_4} = 0,820 \times 5,00 \times 10^{-4}$$

$$= 4,10 \times 10^{-4}$$

Repitiendo los cálculos empleando $\alpha_A = 0,6$ para el Zn^{2+} se obtiene

$$\gamma_{\text{Zn}} = 0,825$$

$$a_{\text{Zn}} = 4,13 \times 10^{-4}$$

La ecuación de Nernst para el electrodo de Pb es ahora

$$E_{\text{Pb}} = -0,350 - \frac{0,0592}{2} \times \log 4,10 \times 10^{-4}$$

$$= -0,250 \text{ V}$$

Para el electrodo de cinc

$$E_{\text{Zn}} = -0,763 - \frac{0,0592}{2} \times \log \frac{1}{4,13 \times 10^{-4}}$$

$$= -0,863 \text{ V}$$

y

$$E_{\text{cel}} = -0,250 - (-0,863) = 0,613 \text{ V}$$

Los valores a otras concentraciones se muestran en la columna (b) de la Tabla 22-2.

Es interesante comparar los potenciales de celda calculados que se muestran en las columnas (a) y (b) en la Tabla 22-2 con los resultados experimentales que se muestran en la última columna. Sin duda, el empleo de actividades proporciona una mejora significativa a las fuerzas iónicas más elevadas.

TABLA 22-2. Potenciales calculados para una celda utilizando (a) concentraciones y (b) actividades.
(Véase Ejemplo 22-6)

M ZnSO_4 x	Fuerza iónica μ	(a) $E(\text{calc})$	(b) $E(\text{calc})$	$E(\text{exptl})^*$
$5,00 \times 10^{-4}$	$2,00 \times 10^{-3}$	0,608	0,613	0,611
$2,00 \times 10^{-3}$	$8,00 \times 10^{-3}$	0,572	0,582	0,583
$1,00 \times 10^{-2}$	$4,00 \times 10^{-2}$	0,531	0,549	0,553
$2,00 \times 10^{-2}$	$8,00 \times 10^{-2}$	0,513	0,537	0,542
$5,00 \times 10^{-2}$	$2,00 \times 10^{-1}$	0,490	0,511	0,529

* Datos experimentales de: I. A. Cowperthwaite y V. K. LaMer, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1931. 53, 4333.

22E. CORRIENTES EN CELDAS ELECTROQUÍMICAS

Sólo un tipo general de método electroanalítico se basa en medidas realizadas en ausencia de corriente apreciable, a saber, los métodos potenciométricos, que se tratan en el Capítulo 23. Los restantes métodos, tratados en los Capítulos 24 y 25, implican todos corrientes eléctricas y medidas de intensidades de corrientes. Por tanto, necesitamos considerar el comportamiento de las celdas en presencia de corrientes significativas.

Como se señaló anteriormente, la electricidad es transportada dentro de la celda por el movimiento de los iones. Con corrientes pequeñas, se cumple generalmente la ley de Ohm, y se puede escribir $E = IR$ donde E es la diferencia de potencial en voltios responsable del movimiento de los iones, I es la intensidad de corriente en amperios y R es la resistencia en ohmios del electrólito al paso de la corriente. La resistencia depende de los tipos y concentraciones de los iones en la disolución.

Cuando se transporta electricidad en corriente continua a través de una celda electroquímica, el potencial de celda medido difiere, generalmente, del obtenido mediante cálculos termodinámicos tales como los mostrados en el Apartado 22B. Esta desviación puede atribuirse a cierto número de fenómenos, incluyendo la resistencia ohmica y diversos *efectos de polarización*, tales como el *sobrepotencial de transferencia de carga*, el *sobrepotencial de reacción*, el *sobrepotencial de difusión* y el *sobrepotencial de cristalización*. Generalmente, estos fenómenos tienen el efecto de reducir el potencial de una celda galvánica o de aumentar el potencial necesario para producir una corriente en una celda electrolítica.

22E-1. Potencial óhmico; caída IR

Para que circule una corriente tanto en una celda galvánica como en una electrolítica, se requiere una fuerza impulsora en forma de un potencial para vencer la resistencia de los iones al movimiento hacia el ánodo y el cátodo. Como en la conducción metálica, esta fuerza sigue la ley de Ohm y es igual al producto de la intensidad de corriente en amperios y la resistencia de la celda en ohmios. La fuerza se conoce generalmente como *potencial óhmico*, o *caída IR* .

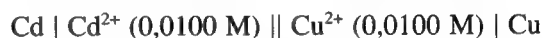
El efecto neto de la caída IR es aumentar el potencial requerido para operar en una celda electro-

lítica y disminuir el potencial medido en una celda galvánica. Por consiguiente, la caída IR siempre se *resta* del potencial de celda teórico. Éste es⁷,

$$E_{\text{cel}} = E_{\text{cátodo}} - E_{\text{ánodo}} - IR \quad (22-16)$$

EJEMPLO 22-7

La siguiente celda tiene una resistencia de 4,00 Ω . Calcular su potencial cuando está produciendo una corriente de 0,100 A.



La sustitución en la ecuación de Nernst revela que el potencial del electrodo para el electrodo de Cu es 0,278 V, mientras que para el electrodo de Cd es -0,462 V. Así, el potencial de celda termodinámico es

$$\begin{aligned} E &= E_{\text{Cu}} - E_{\text{Cd}} \\ &= 0,278 - (-0,462) = 0,740 \text{ V} \end{aligned}$$

y el potencial que produce la corriente deseada es

$$\begin{aligned} E_{\text{cel}} &= 0,740 - IR \\ &= 0,740 - (0,100 \times 4,00) = 0,340 \text{ V} \end{aligned}$$

Obsérvese que el potencial de esta celda disminuye drásticamente cuando hay una corriente en la misma.

EJEMPLO 22-8

Calcular el potencial necesario para generar una intensidad de corriente de 0,100 A en sentido inverso en la celda del Ejemplo 22-7.

$$\begin{aligned} E &= E_{\text{Cd}} - E_{\text{Cu}} \\ &= -0,462 - 0,278 = -0,740 \text{ V} \\ E_{\text{cel}} &= -0,740 - (0,100 \times 4,00) \\ &= -1,140 \text{ V} \end{aligned}$$

En este caso, se necesita un potencial externo superior a 1,140 V para hacer que el Cd^{2+} se depo-

⁷ Aquí y en la discusión siguiente se supondrá que el potencial de unión es despreciable frente a los otros potenciales.

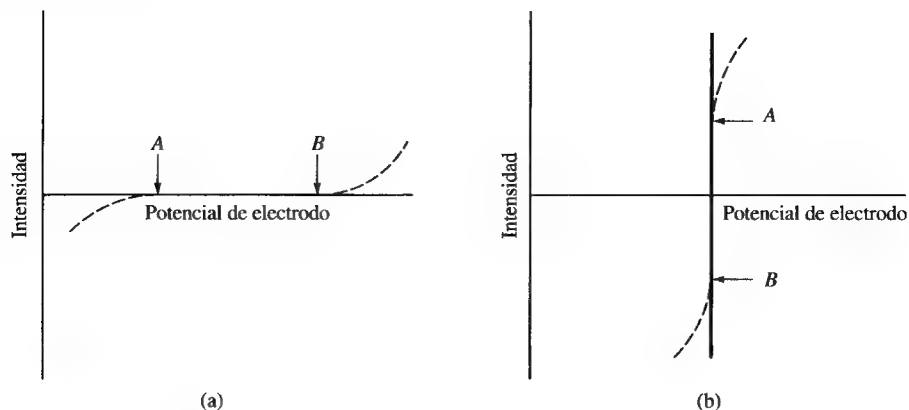


Figura 22-6. Curvas intensidad-potencial para un electrodo (a) polarizado ideal y (b) no polarizado ideal. Las líneas discontinuas muestran la desviación del comportamiento ideal de los electrodos reales.

site y que el Cu se disuelva a la velocidad requerida por una intensidad de corriente de 0,100 A.

22E-2. Polarización

Varios métodos electroanalíticos importantes se basan en las curvas *intensidad-potencial*, que se obtienen midiendo la variación de la intensidad de corriente de una celda en función de su potencial. La Ecuación 22-16 predice que a potenciales de electrodo constantes, debería existir una relación lineal entre el potencial de celda y la intensidad de corriente. De hecho, se encuentran con frecuencia desviaciones de la linealidad; en estas circunstancias, se dice que la celda está *polarizada*. La polarización puede tener lugar en uno o en ambos electrodos.

Como introducción a esta discusión, es útil considerar las curvas intensidad-potencial para un electrodo polarizado ideal y para un electrodo no polarizado ideal. La polarización en un solo electrodo se puede estudiar acoplado éste con un electrodo que no sea fácilmente polarizable. Este electrodo se caracteriza por tener una gran área y por estar basado en una reacción de semi-celda que sea rápida y reversible. Detalles del diseño de electrodos no polarizables se encuentran en los capítulos siguientes.

Celdas y electrodos polarizados y no polarizados ideales

El electrodo polarizado ideal es aquél en el que la intensidad de corriente permanece constante e in-

dependiente del potencial en un intervalo considerable. La Figura 22-6a es una curva intensidad-potencial de un electrodo que se comporta idealmente en la región entre A y B. La Figura 22-6b representa la relación intensidad-potencial de un electrodo despolarizado que se comporta idealmente en la región entre A y B. En este caso el potencial es independiente de la intensidad de corriente.

La Figura 22-7 es una curva intensidad-potencial de una *celda* que tiene electrodos que presentan un comportamiento no polarizado ideal entre los puntos A y B. Debido a la resistencia interna de la celda, la curva intensidad-potencial tiene una pendiente finita igual a R (Ecuación 22-16) en vez de la pendiente infinita del electrodo no polarizado ideal que se muestra en la Figura 22-6b. Más allá de los puntos A y B, tiene lugar la polarización de uno o de ambos electrodos, dando lugar a desviaciones de la línea recta ideal. La mitad superior de la curva da la relación intensidad-potencial cuando la celda funciona como una celda electrolítica; la mitad inferior describe su comportamiento como celda galvánica⁸. Obsérvese, que cuando se produce polarización en una celda electrolítica, se requiere un potencial mayor para conseguir una corriente dada. De forma parecida, la polarización de una celda galvánica produce una potencial que es menor que el esperado.

⁸ En este caso se sigue el convenio de la IUPAC dando un signo negativo a las corrientes catódicas. Desafortunadamente, este convenio no se siguió al principio del desarrollo de algunas técnicas. Así, por razones históricas, no seguiremos siempre el convenio de signos de la IUPAC para el signo de la intensidad de corriente.

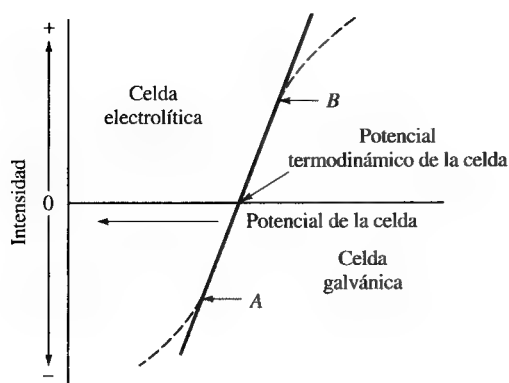


Figura 22-7. Curva intensidad-potencial para una celda que muestra un comportamiento no polarizado ideal entre A y B (línea continua) y un comportamiento polarizado (línea discontinua).

Orígenes de la polarización

La Figura 22-8 representa las tres regiones de una semi-celda donde puede tener lugar la polarización. Estas regiones incluyen el propio electrodo, una capa superficial de disolución inmediatamente adyacente al electrodo, y el seno de la disolución. Para esta semi-celda, la reacción electródica global es



Cualquiera de las diversas etapas intermedias mostradas en la figura puede, sin embargo, limitar la velocidad a la cual transcurre esta reacción global y, por tanto, la magnitud de la corriente. Una de estas etapas en la reacción, denominada *transferencia de masa*, implica el movimiento de la forma Ox

desde el seno de la disolución a la capa superficial. Cuando esta etapa (o la transferencia de masa inversa de la forma Red al seno de la disolución) limita la velocidad de la reacción global y por tanto la intensidad de corriente, se dice que existe *polarización de concentración*. Algunas reacciones de semi-celda provienen de una reacción química intermedia en la cual se forman las especies tales como Ox' o Red'; este producto intermedio es entonces el participante real en el proceso de transferencia electrónica. Si la velocidad de formación o de descomposición de tales productos intermedios limita la intensidad de corriente, se dice que está presente una *polarización de reacción*. En algunos casos, la velocidad de un proceso físico tal como la adsorción, la desorción o la cristalización es lo que limita la intensidad de corriente. Aquí está teniendo lugar una *polarización de adsorción, de desorción, o de cristalización*. Finalmente se encuentra la *polarización de transferencia de carga*, en la que la limitación de la corriente se origina por la lenta velocidad de transferencia de electrones desde el electrodo a las especies oxidadas en la capa superficial o desde las especies reducidas al electrodo. No es infrecuente encontrar semi-celdas en las que están teniendo lugar simultáneamente varios tipos de polarización.

Sobrepotencial

El grado de polarización de un electrodo se mide por el *sobrevoltaje* o *sobrepotencial* η , que es la diferencia entre el potencial real del electrodo E y el potencial termodinámico o potencial de equilibrio E_{eq} . Esto es,

$$\eta = E - E_{\text{eq}} \quad (22-17)$$

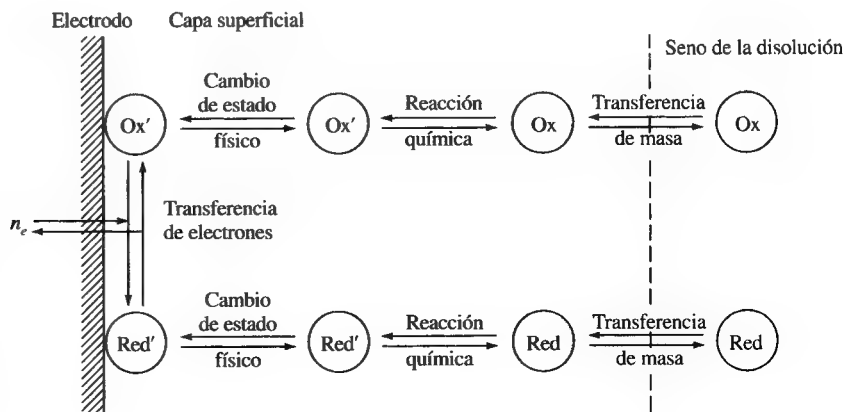


Figura 22-8. Etapas de la reacción $\text{Ox} + n\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Red}$ en un electrodo. Obsérvese que la capa superficial tiene sólo un espesor de unas pocas moléculas. (Adaptado de A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, pág. 21. New York: Wiley, 1980. Reproducido con permiso de John Wiley & Sons, Inc.)

donde $E < E_{eq}$. Es importante darse cuenta de que la polarización siempre reduce el potencial de electrodo del sistema. Así, como hemos señalado, E es siempre menor que E_{eq} , y η es siempre negativo.

Polarización de concentración

La polarización de concentración surge cuando la velocidad de transporte de las especies reactivas a la superficie del electrodo es insuficiente para mantener la intensidad de corriente exigida por la Ecuación 22-16. Al iniciarse la polarización de concentración, se desarrolla un *sobrepotencial de difusión*.

Por ejemplo, considérese una celda construida con un ánodo no polarizable ideal y un cátodo polarizable consistente en un pequeño electrodo de cadmio sumergido en una disolución de iones cadmio. La reducción de los iones cadmio es un proceso rápido y reversible por lo que cuando se aplica un potencial a este electrodo la *capa superficial* de disolución alcanza el equilibrio con el electrodo de forma *casi instantánea*. Esto es, se genera una corriente breve que reduce la concentración superficial de iones cadmio hasta la concentración de equilibrio, c_0 , dada por

$$E = E_{Cd}^0 - \frac{0,0592}{2} \log \frac{1}{c_0} \quad (22-18)$$

Si no existiese ningún mecanismo de transporte de los iones cadmio desde el seno de la disolución hasta la capa superficial, la corriente decrecería rápidamente hasta cero a medida que la concentración en la capa se aproximase a c_0 . Como se verá, sin embargo, existen, de hecho, diversos mecanismos que llevan los iones cadmio desde el seno de la disolución hasta la capa superficial a una velocidad constante. Como consecuencia, la elevada corriente inicial disminuye rápidamente hasta un valor constante que está determinado por la velocidad de transporte de los iones.

Es importante apreciar que para una reacción electroquímica rápida y reversible, puede considerarse siempre que la concentración de la capa superficial es la concentración de equilibrio, que está determinada por el potencial de electrodo en cada momento (Ecuación 22-18). Es también importante darse cuenta que la concentración c_0 es con frecuencia bastante diferente de la del seno de la disolución porque mientras que el equilibrio en la superficie se alcanza casi instantáneamente, la consecución

del equilibrio entre el electrodo y el seno de la disolución requiere con frecuencia minutos o incluso horas.

Para que una intensidad de corriente de la magnitud requerida por la Ecuación 22-16 se mantenga, es necesario que el reactante sea transportado desde el seno de la disolución a la capa superficial a una velocidad dc/dt que viene dada por

$$I = dQ/dt = nFdc/dt$$

donde dQ/dt es la velocidad de flujo de los electrones en el electrodo (o la intensidad de corriente I), n es el número de electrones que aparecen en la semirreacción, y F es el faraday. La velocidad de cambio de la concentración puede escribirse como

$$\frac{dc}{dt} = AJ$$

donde A es el área de la superficie del electrodo en metros cuadrados (m^2) y J es el flujo en $mol\ s^{-1}\ m^{-2}$. Las dos ecuaciones se pueden combinar entonces para dar

$$I = nFAJ \quad (22-19)$$

Cuando esta demanda de reactante no puede ser cubierta por el proceso de transporte de masa, la caída IR de la Ecuación 22-16 se hace menor que su valor teórico, y aparece un sobrepotencial de difusión que contrarresta solamente la disminución en IR . Así, con la aparición de la polarización de concentración, la Ecuación 22-16 queda

$$E_{cel} = E_{cátodo} - E_{ánodo} - IR + \eta_{cátodo}$$

donde $\eta_{cátodo}$ representa el sobrepotencial asociado con el cátodo. Obsérvese, que en este ejemplo, se supuso que el ánodo era un electrodo no polarizable ideal.

Una ecuación más general es

$$E_{cel} = E_{cátodo} - E_{ánodo} + \eta_{cátodo} + \eta_{ánodo} - IR \quad (22-20)$$

donde $\eta_{ánodo}$ es el sobrepotencial anódico. Obsérvese que el sobrepotencial asociado con cada electrodo siempre lleva un signo negativo y tiene el efecto de reducir el potencial global de la celda.

22E-3. Mecanismo de transporte de masa

Es importante ahora investigar los mecanismos mediante los cuales son transportados los iones o moléculas desde el seno de la disolución hasta la capa superficial (o a la inversa) porque un conocimiento de estos mecanismos da una idea de cómo la polarización de concentración puede impedirse o inducirse según se requiera. Como señalamos en el Apartado 22A-4, se pueden distinguir tres mecanismos de transporte de masa: (1) *difusión*, (2) *migración* y (3) *convección*.

Siempre que se establece una diferencia de concentración entre dos regiones de una disolución, tal como pasa cuando una especie se reduce en la superficie de un cátodo (o se oxida en la superficie de un ánodo), los iones o moléculas se mueven desde las regiones más concentradas a las más diluidas como resultado de la difusión. La velocidad de difusión dc/dt viene dada por

$$dc/dt = k(c - c_0) \quad (22-21)$$

donde c es la concentración de reactante en el seno de la disolución, c_0 es su concentración en el equilibrio en la superficie del electrodo, y k es una constante de proporcionalidad. Como se vio anteriormente, *el valor de c_0 está fijado por el potencial del electrodo y se puede calcular a partir de la ecuación de Nernst*. A medida que se aplican potenciales más elevados al electrodo, c_0 se hace cada vez menor, y la velocidad de difusión se hace cada vez más elevada. Finalmente, sin embargo, c_0 se hace despreciable con respecto a c ; la velocidad entonces se mantiene constante. Esto es, cuando $c_0 \rightarrow 0$,

$$dc/dt = kc \quad (22-22)$$

En estas circunstancias, se dice que la polarización de concentración es completa, y que el electrodo funciona como un electrodo polarizado ideal.

El proceso por el que los iones se mueven bajo la influencia de un campo electrostático se llama migración. Con frecuencia es el proceso principal por el que tiene lugar el transporte de masa en el seno de la disolución en una celda. La atracción electrostática (o repulsión) entre una especie iónica concreta y el electrodo se hace menor a medida que la concentración total de electrólito en la disolución se hace más elevada. Puede aproximarse a cero cuando la especie reactiva no es si no una pe-

queña fracción, digamos 1/100, de la concentración total de iones con una carga dada.

Los reactantes pueden también ser transferidos a un electrodo o desde él mismo por medios mecánicos. Así, la convección forzada, como es la agitación, tiende a disminuir la polarización de concentración. La convección natural que resulta de diferencias de temperatura o de densidad contribuye también al transporte de materia.

En resumen, la polarización de concentración se observa cuando la difusión, la migración, y la convección son insuficientes para transportar el reactante a la superficie del electrodo o desde la misma a la velocidad exigida por la intensidad de corriente teórica. La polarización de concentración hace que el potencial de una celda galvánica sea menor que el valor predicho basándose en el potencial termodinámico y en la caída IR . De manera similar, en una celda electrolítica, se requiere un potencial más negativo que el teórico para mantener una corriente dada.

La polarización de concentración es importante en varios métodos electroanalíticos. En algunas aplicaciones, se toman medidas para eliminarla; en otras, sin embargo, es esencial al método, y se intenta promoverla. El grado de polarización de concentración viene influido experimentalmente por: (1) la concentración de los reactantes, siendo la polarización más probable a concentraciones bajas; (2) la concentración total de electrólito, siendo la polarización más probable a elevadas concentraciones; (3) la agitación mecánica, disminuyendo la polarización en soluciones bien agitadas; y (4) el tamaño de electrodo, disminuyendo los efectos de la polarización a medida que la superficie del electrodo aumenta.

22E-4. Polarización de transferencia de carga

La polarización de transferencia de carga surge cuando la velocidad de oxidación o de reducción en uno o en ambos electrodos no es suficientemente rápida para producir corrientes de la intensidad demandada por la teoría. El sobrepotencial que surge de la polarización de transferencia de carga tiene las siguientes características:

1. El sobrepotencial aumenta con la densidad de corriente (la densidad de corriente se define como amperios por centímetro cuadrado de superficie del electrodo).

2. Los sobrepotenciales normalmente disminuyen con el aumento de la temperatura.
3. Los sobrepotenciales varían con la composición química del electrodo, siendo con frecuencia más acusados con los metales más blandos como el estaño, el plomo, el cinc, y en particular con el mercurio.
4. Los sobrepotenciales son más acusados en procesos electródicos que generan productos gaseosos tales como hidrógeno u oxígeno; son frecuentemente despreciables cuando se está depositando un metal o un ion está experimentando un cambio de estado de oxidación.
5. La magnitud del sobrepotencial en cualquier situación no se puede predecir exactamente, ya que está determinado por un cierto número de variables incontrolables⁹.

El sobrepotencial asociado con el desprendimiento de hidrógeno y oxígeno es de particular interés para el químico. La diferencia entre el sobrepotencial de estos gases en las superficies de platino pulidas y en las platinizadas es notable. Esta diferencia se debe principalmente a la superficie mucho mayor asociada a los electrodos platinizados, lo que da lugar a una densidad de corriente *real* que es significativamente menor de lo esperado por las dimensiones globales del electrodo. Siempre se emplea una superficie platinizada en la construcción de los electrodos de referencia de hidrógeno con el fin de disminuir la densidad de corriente a un nivel donde el sobrepotencial es despreciable.

El elevado sobrepotencial asociado con la formación de hidrógeno permite la deposición electrolítica de diversos metales que requieren potenciales a los cuales podría esperarse que el hidrógeno interfiriese. Por ejemplo, a partir de los potenciales estándar se demuestra fácilmente que debería tener lugar una rápida formación de hidrógeno bastante por debajo del potencial requerido para la deposición del cinc en una disolución neutra. No obstante, se puede conseguir la deposición cuantitativa de cinc siempre que se utilice un electrodo de mercurio o de cobre; debido al elevado sobrepotencial del hidrógeno en estos metales, poco o nada de gas se desprende durante la electrodeposición.

La magnitud del sobrepotencial sólo se puede, en el mejor de los casos, calcular de modo aproximado a partir de la información empírica disponible en la bibliografía. El cálculo de los potenciales de celda en los cuales el sobrepotencial forma parte no puede ser, por tanto, muy exacto. Como en el sobrepotencial de difusión, los sobrepotenciales de transferencia de carga y los físicos siempre llevan un signo negativo y tienen el efecto de hacer que el potencial observado sea menor que el potencial termodinámico de electrodo.

22F. TIPOS DE MÉTODOS ELECTROANALÍTICOS

Se han propuesto una amplia variedad de métodos analíticos. Aquellos de uso bastante general y que se tratan en este libro, se muestran en la Figura 22-9. Estos métodos se dividen en métodos interfaciales y métodos del seno de la disolución, siendo los primeros los que tienen mayor aplicación. Los métodos interfaciales se basan en fenómenos que tienen lugar en la interfase entre las superficies de los electrodos y la delgada capa de disolución justamente adyacente a estas superficies. Por el contrario, los métodos del seno de la disolución se basan en fenómenos que ocurren en el seno de la disolución; haciendo todos los esfuerzos para impedir los efectos interfaciales.

Los métodos interfaciales se pueden dividir en dos grandes categorías, estáticos y dinámicos, en función de cómo operan las celdas electroquímicas, en ausencia o en presencia de corriente. Los métodos estáticos, que implican medidas potenciométricas son de particular importancia debido a su rapidez y selectividad. Los métodos potenciométricos se tratan en el Capítulo 23.

Los métodos interfaciales dinámicos, en los que las corrientes en las celdas electroquímicas juegan un papel clave, son de diversos tipos. En tres de los métodos mostrados a la izquierda de la Figura 22-9, se controla el potencial de la celda mientras se llevan a cabo las medidas de otras variables. Generalmente, estos métodos son sensibles y tienen intervalos dinámicos relativamente amplios (normalmente de 10^{-8} a 10^{-3} M). Además, muchos de estos procedimientos pueden llevarse a cabo con volúmenes de muestra de microlitros o incluso nanolitros. En este caso, se pueden alcanzar límites de detección en el intervalo de picomoles.

⁹ Los valores del sobrepotencial para varias especies gaseosas en las superficies de diferentes electrodos se encuentran en el *Handbook of Analytical Chemistry*, L. Meites, Ed., pág. 5-184. New York: McGraw-Hill, 1963.

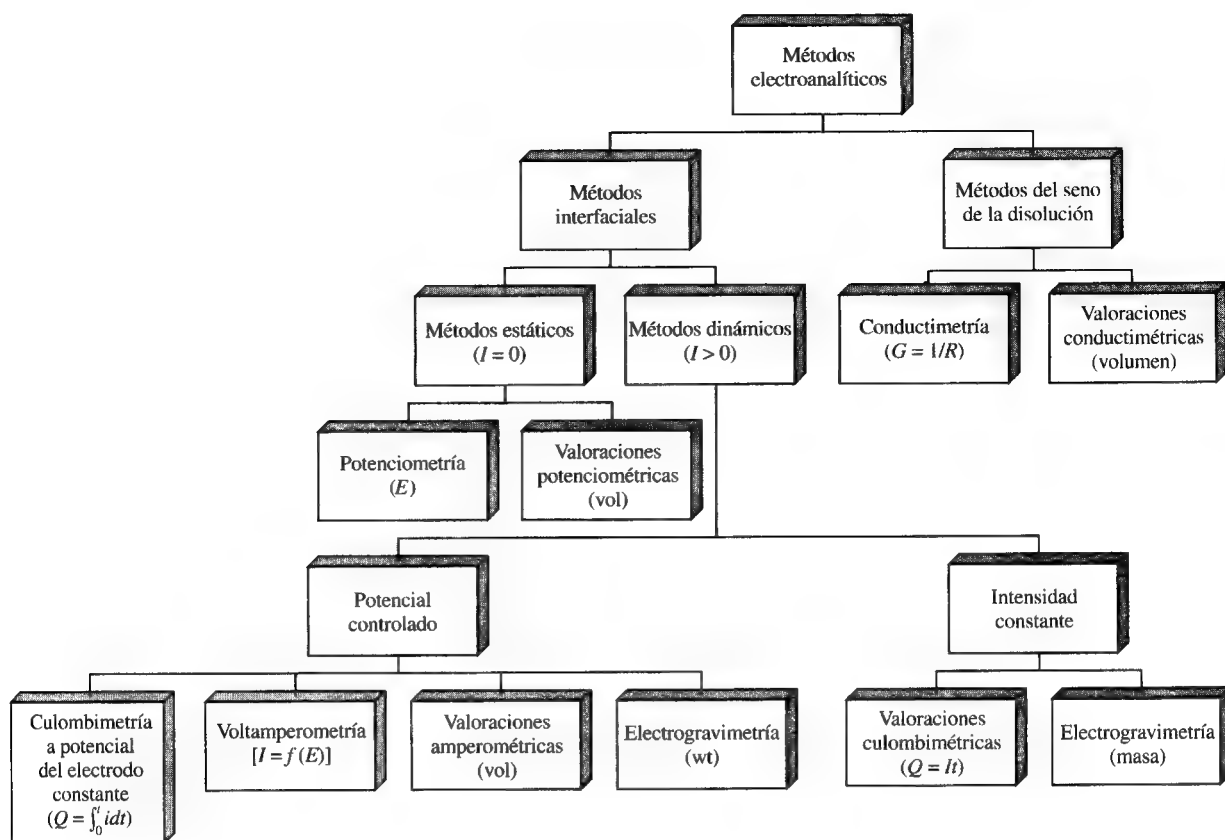


Figura 22-9. Resumen de los métodos electroanalíticos comunes. El parámetro medido aparece entre paréntesis. (I = intensidad de corriente, E = potencial, R = resistencia, G = conductancia, Q = cantidad de electricidad, t = tiempo, vol = volumen de disolución patrón, wt = peso de una especie electrodepositada.)

En los métodos dinámicos a intensidad de corriente constante, la intensidad de corriente en la celda se mantiene constante mientras se recogen los datos. Los métodos dinámicos de ambos tipos se tratan en los Capítulos 24 y 25.

La mayor parte de las técnicas electroanalíticas mostradas en la Figura 22-9 han sido utilizadas como detectores en diversos procedimientos cromatográficos.

22G. CUESTIONES Y PROBLEMAS

22-1. Calcular los potenciales de electrodo de las siguientes semi-celdas.

- Ag^+ (0,0152 M) | Ag
- Fe^{3+} ($2,35 \times 10^{-4}$ M), Fe^{2+} (0,200 M) | Pt
- AgBr(sat), Br^- (0,100 M) | Ag

22-2. Calcular los potenciales de electrodo de las siguientes semi-celdas.

- HCl (3,50 M) | H_2 (0,950 atm.), Pt
- IO_3^- (0,235 M), I_2 ($5,00 \times 10^{-4}$ M), H^+ ($2,00 \times 10^{-3}$ M) | Pt
- Ag_2CrO_4 (sat), CrO_4^{2-} (0,0250 M) | Ag

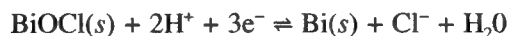
- 22-3.** Para cada una de las siguientes semi-celdas, comparar los potenciales de electrodo deducidos a partir de (1) datos de concentración y (2) datos de actividad.
- (a) HCl (0,0100 M), NaCl (0,0400 M) | H_2 (1,00 atm.), Pt
- (b) $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_2$ (0,0111 M), $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$ (0,0111 M) | Pt
- 22-4.** Para cada una de las siguientes semi-celdas, comparar los potenciales de electrodo deducidos a partir de (1) datos de concentración y (2) datos de actividad.
- (a) $\text{Sn}(\text{ClO}_4)_2$ ($2,00 \times 10^{-5}$ M), $\text{Sn}(\text{ClO}_4)_4$ ($1,00 \times 10^{-5}$ M) | Pt
- (b) $\text{Sn}(\text{ClO}_4)_2$ ($2,00 \times 10^{-5}$ M), $\text{Sn}(\text{ClO}_4)_4$ ($1,00 \times 10^{-5}$ M), NaClO_4 (0,0500 M) | Pt
- 22-5.** Calcular el potencial de un electrodo de plata en contacto con lo siguiente:
- (a) Una disolución que es 0,0200 M en I^- y saturada con AgI.
- (b) Una disolución que es 0,0060 M en CN^- y 0,0400 M en $\text{Ag}(\text{CN})_2^-$.
- (c) La disolución que resulta de mezclar 25,0 mL de KBr 0,0400 M con 20,0 mL de Ag^+ 0,200 M.
- (d) La disolución que resulta de mezclar 25,0 mL de Ag^+ 0,0400 M con 20,0 mL de BrK 0,200 M.
- 22-6.** Calcular los potenciales de electrodo para los siguientes sistemas:
- (a) $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ($5,00 \times 10^{-3}$ M), Cr^{3+} ($1,00 \times 10^{-2}$ M), H^+ (0,200 M) | Pt
- (b) UO_2^{2+} (0,100 M), U^{4+} (0,200 M), H^+ (0,600 M) | Pt
- 22-7.** Calcular el potencial teórico de cada una de las siguientes celdas. ¿Es la celda tal como está escrita galvánica o electrolítica?
- (a) $\text{Pt} | \text{Cr}^{3+} (2,00 \times 10^{-4} \text{ M}), \text{Cr}^{2+} (1,00 \times 10^{-3} \text{ M}) || \text{Pb}^{2+} (6,50 \times 10^{-2} \text{ M}) | \text{Pb}$
- (b) $\text{Hg} | \text{Hg}_2^{2+} (4,00 \times 10^{-2} \text{ M}) || \text{H}^+ (3,00 \times 10^{-2} \text{ M}), \text{V}^{3+} (2,00 \times 10^{-2} \text{ M}), \text{VO}^{2+} (6,00 \times 10^{-3} \text{ M}) | \text{Pt}$
- (c) $\text{Pt} | \text{Fe}^{3+} (2,00 \times 10^{-2} \text{ M}), \text{Fe}^{2+} (6,00 \times 10^{-5} \text{ M}) || \text{Sn}^{2+} (3,50 \times 10^{-2} \text{ M}), \text{Sn}^{4+} (1,50 \times 10^{-4} \text{ M}) | \text{Pt}$
- 22-8.** Calcular el potencial teórico de cada una de las siguientes celdas. ¿Es la celda tal como está escrita galvánica o electrolítica?
- (a) $\text{Bi} | \text{BiO}^+ (0,0400 \text{ M}), \text{H}^+ (0,200 \text{ M}) || \text{I}^- (0,100 \text{ M}), \text{AgI} (\text{sat}) | \text{Ag}$
- (b) $\text{Zn} | \text{Zn}^{2+} (7,50 \times 10^{-4} \text{ M}) || \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-} (4,50 \times 10^{-2} \text{ M}), \text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} (7,00 \times 10^{-2} \text{ M}) | \text{Pt}$
- (c) $\text{Pt}, \text{H}_2 (0,100 \text{ atm}) | \text{HCl} (4,50 \times 10^{-4} \text{ M}), \text{AgCl} (\text{sat}) | \text{Ag}$
- 22-9.** Calcule E^0 para el proceso



dado que la constante de formación para el complejo es $1,0 \times 10^{22}$.

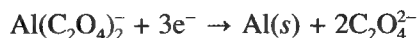
- 22-10.** La constante del producto de solubilidad para el PbI_2 es $7,1 \times 10^{-9}$ a 25 °C. Calcular E^0 para el proceso.

- 22-11.** Calcular el potencial estandar para la semirreacción



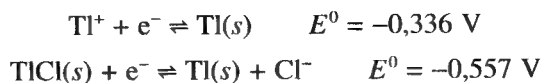
dado que K_{ps} para el BiOCl tiene un valor de $8,1 \times 10^{-19}$.

- 22-12.** Calcular el potencial estándar para la semirreacción



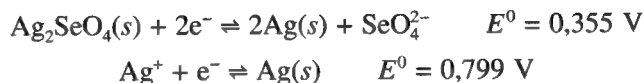
si la constante de formación del complejo es $1,3 \times 10^{13}$.

22-13. A partir de los potenciales estándar



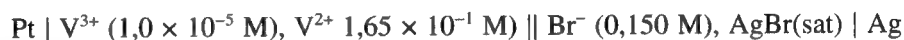
calcular la constante del producto de solubilidad del TlCl.

22-14. A partir de los potenciales estándar



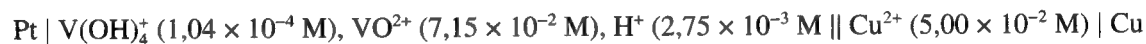
calcular la constante del producto de solubilidad del Ag_2SeO_4 .

22-15. Se va a obtener una intensidad de corriente de 0,0750 A de la celda



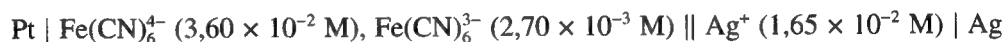
Como resultado de su diseño, la celda tiene una resistencia interna de 6,74 Ω . Calcular el potencial que inicialmente se espera.

22-16. La celda



tiene una resistencia interna de 2,24 Ω . ¿Cuál será el potencial inicial si se obtienen 0,0300 A de esta celda?

22-17. La resistencia de la celda galvánica



es 4,10 Ω . Calcular el potencial inicial cuando se extraen 0,0106 A de esta celda.

Capítulo 23

Potenciometría

Los métodos potenciométricos de análisis se basan en las medidas del potencial de celdas electroquímicas en ausencia de corrientes apreciables. Desde el comienzo del siglo XX, las técnicas potenciométricas se han utilizado para la detección de los puntos finales en los métodos volumétricos de análisis. De origen más reciente son los métodos en los que las concentraciones de los iones se obtienen directamente del potencial de un electrodo de membrana selectiva de iones. Tales electrodos están relativamente libres de interferencias y proporcionan un medio rápido y conveniente para estimaciones cuantitativas de numerosos aniones y cationes importantes¹.

El equipo requerido para los métodos potenciométricos es sencillo y económico e incluye un **electrodo de referencia**, un **electrodo indicador** y un **dispositivo para la medida del potencial**. El diseño y las propiedades de cada uno de estos componentes se describen en las secciones iniciales de

este capítulo. A continuación de esta discusión se hacen unas consideraciones acerca de las aplicaciones analíticas de las medidas potenciométricas.

23A. ELECTRODOS DE REFERENCIA

En la mayor parte de las aplicaciones electroanalíticas, es deseable que el potencial de semi-celda de uno de los electrodos sea conocido, constante, y completamente insensible a la composición de la disolución en estudio. Un electrodo que se ajusta a esta descripción se llama *electrodo de referencia*². Junto con el electrodo de referencia se emplea un *electrodo indicador* o *de trabajo*, cuya respuesta depende de la concentración de analito.

El electrodo de referencia ideal: (1) es reversible y obedece a la ecuación de Nernst, (2) presenta un potencial que es constante en el tiempo, (3) re-

¹ Para más información sobre métodos potenciométricos, véase E. P. Serjeant, *Potentiometry and Potentiometric Titrations*. New York: Wiley, 1984.

² Para una discusión detallada de los electrodos de referencia, véase D. J. G. Ives y G. J. Janz, *Reference Electrodes*. New York: Academic Press, 1961. Para descripciones de los electrodos de referencia típicos disponibles en el comercio, véase R. D. Caton Jr., *J. Chem. Educ.*, **1973**, 50, A571; **1974**, 51, A7; *The Beckman Handbook of Applied Electrochemistry*, 2.^a ed., Bulletin 7707A. Irvine, CA: Beckman Instruments, 1982.

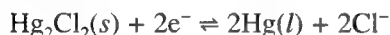
torna a su potencial original después de haber estado sometido a corrientes pequeñas, y (4) presenta poca histéresis con ciclos de temperatura. Aunque ningún electrodo de referencia satisface completamente estos ideales, varios están asombrosamente cerca.

23A-1. Electrodos de calomelanos

Los electrodos de referencia de calomelanos se componen de mercurio en contacto con una solución saturada de cloruro de mercurio(I) (calomelanos) que contiene también una concentración conocida de cloruro de potasio. Las semi-celdas de calomelanos se pueden representar como sigue:



donde x representa la concentración molar de cloruro de potasio en la disolución³. El potencial de electrodo para esta semi-celda está determinado por la reacción



y depende de la concentración x de cloruro. Así, esta cantidad debe especificarse en la descripción del electrodo.

En la Tabla 23-1 se da un listado de la composición y de los potenciales de tres electrodos de calomelanos encontrados con frecuencia. Obsérvese que cada disolución está saturada con cloruro de mercurio(I) (calomelanos) y que las celdas difieren sólo con respecto a la concentración de cloruro de potasio.

El electrodo de calomelanos saturado (ECS) es muy utilizado por los químicos analíticos debido a la facilidad con que puede prepararse⁴. Sin embargo, comparado con los otros electrodos de calomelanos, su coeficiente de temperatura es significativamente mayor (véase Tabla 23-1). Otra desventaja es que cuando cambia la temperatura, el potencial sólo alcanza el nuevo valor lentamente, debido al tiempo requerido para restablecer el

³ Por convenio, a un electrodo de referencia se le trata siempre como ánodo, como en el diagrama que se muestra. Esta práctica es coherente con el convenio de la IUPAC para potenciales de electrodo, el cual se trató en el Apartado 21C-2 y en el que la referencia es el electrodo estándar de hidrógeno como ánodo o el electrodo de la izquierda en un diagrama de celda.

⁴ Obsérvese que el término «saturado» en el nombre se refiere a la concentración de KCl (alrededor de 4,6 M) y no a la concentración de Hg_2Cl_2 ; esta última es saturada en todos los electrodos de calomelanos.

equilibrio de solubilidad del cloruro de potasio y de calomelanos. El potencial del electrodo de calomelanos saturado a 25 °C es 0,2444 V.

Se dispone en el comercio de varios electrodos de calomelanos adecuados; dos característicos son los que se ilustran en la Figura 23-1. El cuerpo de cada electrodo consiste en un tubo externo de vidrio o de plástico que tiene de 5 a 15 cm de longitud y de 0,5 a 1,0 cm de diámetro. El tubo interno contiene una pasta de mercurio/cloruro de mercurio(I) en cloruro de potasio saturado; este tubo está en contacto con la disolución de cloruro de potasio saturada del tubo externo a través de una pequeña abertura.

Para el electrodo (a), el contacto con el sistema del electrodo indicador se hace por medio de un tapón de porcelana fritada, una fibra porosa, o una pieza de Vycor poroso («vidrio seco») sellada en el extremo del tubo externo. Este tipo de unión tiene una resistencia relativamente elevada (2.000 a 3.000 Ω) y una capacidad limitada de transportar la corriente; por otra parte, la contaminación de la

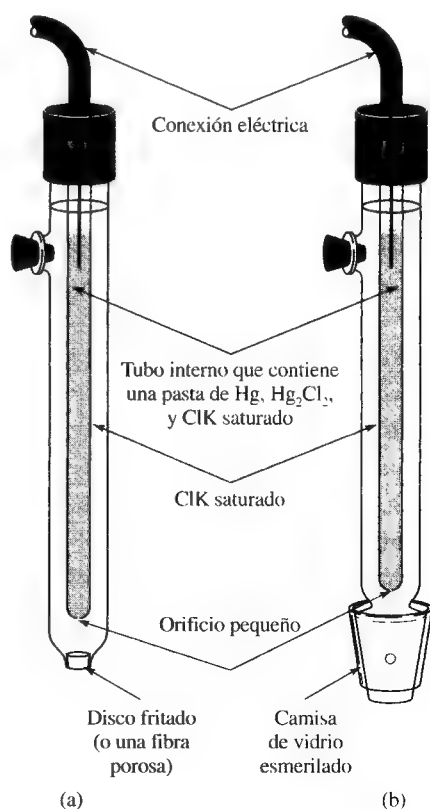


Figura 23-1. Electrodos de referencia de calomelanos comerciales típicos.

TABLA 23-1. Potenciales de los electrodos de referencia en disoluciones acuosas

Temperatura, °C	Potencial de electrodo (V), vs. SHE				
	Calomelanos ^a 0,1 M ^c	Calomelanos ^b 3,5 M ^c	Calomelanos ^a saturado ^c	Ag/ClAg 3,5 M ^{b,c}	Ag/ClAg saturado ^{b,c}
10		0,256		0,215	0,214
12	0,3362		0,2528		
15	0,3362	0,254	0,2511	0,212	0,209
20	0,3359	0,252	0,2479	0,208	0,204
25	0,3356	0,250	0,2444	0,205	0,199
30	0,3351	0,248	0,2411	0,201	0,194
35	0,3344	0,246	0,2376	0,197	0,189
38	0,3338		0,2355		
40		0,244		0,193	0,184

^a Datos de: R. G. Bates en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.^a ed., I. M. Kolthoff y P. J. Elving, Eds., Part I, Vol. 1, pág. 793, Wiley: New York, 1978.

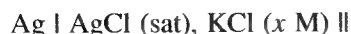
^b Datos de: D. T. Sawyer y J. L. Roberts Jr., *Experimental Electrochemistry for Chemists*, pág. 42, Wiley: New York, 1974.

^c «M» y «saturado» se refieren a la concentración de KCl y no de Hg₂Cl₂.

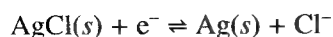
disolución del analito debido a la salida de cloruro de potasio es mínima. El electrodo tipo camisa que se muestra en la Figura 23-1b tiene una resistencia mucho menor pero tiende a derramar pequeñas cantidades de cloruro de potasio en la muestra. Antes de utilizarlo, se afloja y hace girar el collar de vidrio esmerilado, de forma que una gota o dos de disolución de KCl fluyan a través del agujero y mojen toda la superficie interior esmerilada. De esta manera se establece un mejor contacto eléctrico con la disolución del analito. El electrodo tipo camisa es particularmente útil para medidas en disoluciones no acuosas y en muestras pastosas, en sedimentos, en disoluciones viscosas y en suspensiones coloidales.

23A-2. Electrodos de plata/cloruro de plata

El electrodo de referencia más ampliamente comercializado consiste en un electrodo de plata sumergido en una disolución de cloruro de potasio saturada con cloruro de plata



El potencial de electrodo está determinado por la semirreacción



Normalmente, este electrodo se prepara o bien con una disolución saturada de cloruro de potasio o con una 3,5 M; los potenciales de estos electrodos se dan en la Tabla 23-1. Los modelos comerciales de este electrodo son semejantes en apariencia externa y en forma a los dos electrodos de calomelanos representados en la Figura 23-1. Sin embargo, en los electrodos de plata/cloruro de plata el tubo interno se reemplaza por un alambre de plata recubierto con una capa de cloruro de plata; este alambre está sumergido en una disolución de cloruro de potasio saturada con cloruro de plata. Para ambos tipos de electrodos se utilizan uniones similares.

Los electrodos de plata/cloruro de plata tienen la ventaja de que pueden utilizarse a temperaturas superiores a 60 °C, mientras que los electrodos de calomelanos no. Por otra parte, los iones mercurio(I) reaccionan con menos componentes de la muestra que los iones plata (que pueden, por ejemplo, reaccionar con las proteínas); tales reacciones pueden conducir a la obturación de la unión entre el electrodo y la disolución de analito.

23A-3. Precauciones en la utilización de los electrodos de referencia

En la utilización de los electrodos de referencia, tales como los que se muestran en la Figura 23-1, el nivel del líquido interno debería mantenerse siempre por encima del de la disolución de la muestra

para impedir la contaminación de la disolución del electrodo y la obturación de la unión debido a la reacción de la disolución del analito con iones plata o mercurio(I) de la disolución interna. La obturación de la unión es probablemente la causa más frecuente del comportamiento errático de la celda en las medidas potenciométricas⁵.

Si se mantiene el nivel del líquido por encima del de la disolución del analito, es inevitable que se contamine algo la muestra. En la mayor parte de los casos, la contaminación es tan leve que no tiene trascendencia. Sin embargo, en la determinación de iones tales como cloruro, potasio, plata y mercurio, se deben tomar con frecuencia precauciones para evitar esta fuente de error. Una manera frecuente de evitarla es interponer un segundo puente salino entre el analito y el electrodo de referencia; este puente debe contener un electrólito que no interfiera, tal como nitrato de potasio o sulfato de sodio. Varios fabricantes de instrumentos ofertan electrodos de doble unión que presentan este diseño.

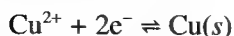
23B. ELECTRODOS INDICADORES METÁLICOS

Un electrodo indicador ideal responde de forma rápida y reproducible a los cambios de actividad del ion analito. Aunque ningún electrodo indicador es absolutamente específico en su respuesta, actualmente se dispone de unos pocos que son marcadamente selectivos. Hay dos tipos de electrodos indicadores: *metálicos* y de *membrana*. Esta sección trata de los electrodos indicadores metálicos.

Se pueden distinguir cuatro tipos de electrodos indicadores metálicos: *electrodos de primera clase*, *electrodos de segunda clase*, *electrodos de tercera clase* y *electrodos redox*.

23B-1. Electrodos de primera clase

Los *electrodos metálicos de primera clase* están en equilibrio directo con el catión que deriva del electrodo metálico. En este caso, interviene una única reacción. Por ejemplo, para un electrodo indicador de cobre, podemos escribir



⁵ Para una discusión útil sobre el cuidado y el mantenimiento de los electrodos de referencia, véase J. E. Fisher, *Amer. Lab.*, 1984, (6), 54.

El potencial E_{ind} de este electrodo viene dado por

$$\begin{aligned} E_{\text{ind}} &= E_{\text{Cu}}^0 - \frac{0,0592}{2} \log \frac{1}{a_{\text{Cu}^{2+}}} \\ &= E_{\text{Cu}}^0 - \frac{0,0592}{2} \text{pCu} \end{aligned} \quad (23-1)$$

donde pCu es el logaritmo negativo de la actividad $a_{\text{Cu}^{2+}}$ del ion cobre(II). De esta manera, el electrodo de cobre proporciona una medida directa del pCu de la disolución⁶.

Los electrodos de primera clase no son muy utilizados en el análisis potenciométrico por varias razones. En primer lugar, no son muy selectivos y responden no sólo a sus propios cationes sino también a otros cationes más fácilmente reducibles. Por ejemplo, un electrodo de cobre no puede utilizarse para la determinación de iones Cu(II) en presencia de iones plata(I), que también se reducen en la superficie del cobre. Además, muchos electrodos metálicos, tales como los de cinc y cadmio, sólo pueden utilizarse en disoluciones neutras o básicas porque se disuelven en presencia de ácidos. En tercer lugar, algunos metales se oxidan tan fácilmente que su uso queda restringido a disoluciones previamente desaireadas. Finalmente, ciertos metales duros, tales como hierro, cromo, cobalto y níquel, no proporcionan potenciales reproducibles. Más aún, para estos electrodos, las gráficas de pX frente a la actividad proporcionan pendientes que difieren significativa e irregularmente del valor teórico $(-0,0592/n)$. Por estas razones, los únicos sistemas electródicos de primera clase que se han utilizado son Ag/Ag⁺ y Hg/Hg₂²⁺ en disoluciones neutras, y Cu/Cu²⁺, Zn/Zn²⁺, Cd/Cd²⁺, Bi/Bi³⁺, Ti/Ti⁺ y Pb/Pb²⁺ en disoluciones desaireadas.

⁶ Los resultados de las medidas potenciométricas se expresan normalmente en términos de un parámetro logarítmico, la *función p*, que es directamente proporcional al potencial medido. La función p proporciona una medida de la actividad en forma de un número adecuado, pequeño y normalmente positivo. Así, para una disolución con una actividad de ion calcio de $2,00 \times 10^{-6}$ M, se puede escribir $\text{pCa} = -\log (2,00 \times 10^{-6}) = 5,699$. Obsérvese que cuando la actividad de calcio aumenta, su función p disminuye. Nótese también que como la actividad se da con tres cifras significativas, se tiene que mantener este número de cifras a la derecha de la coma en el cálculo de pCa, ya que éstos son los únicos números que dan información sobre el original 2,00. El 5 en el valor de pCa sólo suministra información sobre la posición de la coma en el número original.

23B-2. Electrodos de segunda clase

Con frecuencia se puede conseguir que un metal responda a la actividad de un anión con el que forma un precipitado o un ion complejo estable. Por ejemplo, la plata puede servir como un *electrodo de segunda clase* para haluros y aniones pseudohaluro. Para preparar un electrodo capaz de determinar ion cloruro sólo es necesario saturar con cloruro de plata la capa de disolución del analito adyacente al electrodo de plata. La reacción de electrodo se puede entonces escribir como

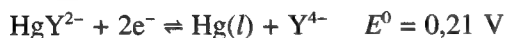


Aplicando la ecuación de Nernst se obtiene

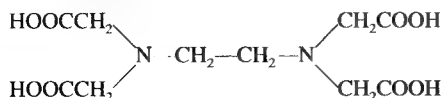
$$\begin{aligned} E_{\text{ind}} &= 0,222 - 0,0592 \log a_{\text{Cl}^-} \\ &= 0,222 + 0,0592 \text{ pCl} \end{aligned} \quad (23-2)$$

Una manera adecuada de preparar un electrodo sensible a cloruros es poner un alambre de plata pura como ánodo en una celda electrolítica que contenga cloruro de potasio. El alambre quedará recubierto con un depósito adherido de haluro de plata, que rápidamente se equilibrará con la capa superficial de la disolución en la que esté sumergido. Dado que la solubilidad del cloruro de plata es baja, un electrodo obtenido de esta manera puede utilizarse para numerosas medidas.

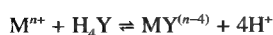
Un electrodo importante de segunda clase para medir la actividad del anión Y^{4-} del EDTA se basa en la respuesta de un electrodo de mercurio en presencia de una pequeña concentración del complejo estable del EDTA con Hg(II) ⁷. La semirreacción para el proceso de electrodo se puede escribir como



⁷ El ácido etilendiaminetetraacético, comúnmente llamado EDTA y formulado como H_4Y , es un agente complejante muy utilizado como valorador para la determinación de muchos cationes. El compuesto tiene la estructura



Los cuatro grupos carboxilato, así con los dos grupos amino, forman enlaces con todos los cationes. Independientemente de la carga del catión, la reacción de formación del complejo se puede formular como



para el que

$$E_{\text{ind}} = 0,21 - \frac{0,0592}{2} \log \frac{a_{\text{Y}^{4-}}}{a_{\text{HgY}^{2-}}}$$

Para emplear este electrodo, es necesario introducir al principio una pequeña concentración de HgY^{2-} en la disolución del analito. El complejo es tan estable (para el HgY^{2-} , $K_f = 6,3 \times 10^{21}$) que su actividad permanece prácticamente constante en un amplio intervalo de actividades de Y^{4-} . Por consiguiente, la ecuación del potencial se puede escribir en la forma

$$\begin{aligned} E_{\text{ind}} &= K - \frac{0,0592}{2} \log a_{\text{Y}^{4-}} \\ &= K + \frac{0,0592}{2} \text{ pY} \end{aligned} \quad (23-3)$$

donde la constante K es igual a

$$K = 0,21 - \frac{0,0592}{2} \log \frac{1}{a_{\text{HgY}^{2-}}}$$

Este electrodo es útil para establecer los puntos finales en las valoraciones con EDTA.

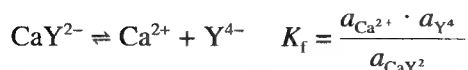
23B-3. Electrodos de tercera clase

Se puede hacer, en ciertas circunstancias, que un electrodo metálico responda a un catión diferente. Entonces se convierte en un *electrodo de tercera clase*. Como ejemplo, un electrodo de mercurio se ha utilizado para la determinación del pCa de disoluciones que contienen calcio. Como en el ejemplo precedente, se introduce en la disolución una pequeña concentración del complejo de EDTA con Hg(II) . Como antes (Ecuación 23-3) el potencial de un electrodo de mercurio en esta disolución viene dado por

$$E_{\text{ind}} = K - \frac{0,0592}{2} \log a_{\text{Y}^{4-}}$$

Si, además, se introduce un pequeño volumen de una disolución que contiene el complejo del EDTA

con el calcio, se establece un nuevo equilibrio, a saber,



Combinando la expresión de la constante de formación del CaY^{2-} con la expresión del potencial se obtiene

$$E_{\text{ind}} = K - \frac{0,0592}{2} \log \frac{K_f a_{\text{CaY}^{2-}}}{a_{\text{Ca}^{2+}}}$$

que se puede escribir como

$$E_{\text{ind}} = K - \frac{0,0592}{2} \log K_f a_{\text{CaY}^{2-}} - \frac{0,0592}{2} \log \frac{1}{a_{\text{Ca}^{2+}}}$$

Si se utiliza una cantidad constante de CaY^{2-} en la disolución del analito y en las disoluciones para estandarización, se puede escribir

$$E_{\text{ind}} = K' - \frac{0,0592}{2} \text{pCa} \quad (23-4)$$

donde

$$K' = K - \frac{0,0592}{2} \log K_f a_{\text{CaY}^{2-}}$$

Así, el electrodo de mercurio se ha transformado en un electrodo de tercera clase para el ion calcio.

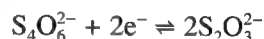
23B-4. Indicadores redox metálicos

Los electrodos construidos con platino, oro, paladio u otros metales inertes sirven frecuentemente como electrodos indicadores para sistemas de oxidación/reducción. En estas aplicaciones, el electrodo inerte actúa como una fuente o un sumidero de los electrones transferidos desde un sistema redox presente en la disolución. Por ejemplo, el potencial de un electrodo de platino en una disolución que contiene iones Ce(III) y Ce(IV) viene dado por

$$E_{\text{ind}} = E^0 - 0,0592 \log \frac{a_{\text{Ce}^{3+}}}{a_{\text{Ce}^{4+}}}$$

Por tanto, un electrodo de platino puede servir como electrodo indicador en una valoración en la que el Ce(IV) se utilice como reactivo estándar.

Se debe resaltar, sin embargo, que los procesos de transferencia de electrones en los electrodos inertes no son con frecuencia reversibles. Como consecuencia, los electrodos inertes no responden de manera predecible a muchas de las semirreacciones encontradas en la tabla de potenciales de electrodo. Por ejemplo, un electrodo de platino sumergido en una disolución de iones tiosulfato y tetratiónato no presenta potenciales reproducibles, ya que el proceso de transferencia de electrones



es lento y, por tanto, no reversible en la superficie del electrodo.

23C. ELECTRODOS INDICADORES DE MEMBRANA⁸

Se puede conseguir de fuentes comerciales una amplia variedad de electrodos de membrana que permiten la determinación rápida y selectiva de numerosos cationes y aniones por medidas potenciométricas directas. A menudo, los electrodos de membrana se denominan *electrodos selectivos de iones* debido a la gran selectividad de la mayor parte de estos dispositivos. También se refieren a ellos como *electrodos de plon* debido a que su respuesta se registra generalmente como una función p, tal como pH, pCa, o pNO_3 (véase nota 6 a pie de página).

23C-1. Clasificación de las membranas

La Tabla 23-2 da un listado de los diversos electrodos de membrana selectivos de iones que se han desarrollado. Éstos difieren en la composición física o química de la membrana. El mecanismo general por el que se desarrolla en estos dispositivos un potencial selectivo a iones depende de la naturaleza de la membrana y es completamente diferente

⁸ Algunas fuentes aconsejables para información adicional sobre este tópico son: A. Evans, *Potentiometry and Ion-Selective Electrodes*. New York: Wiley, 1987; J. Koryta y K. Stulik, *Ion Selective Electrodes*, 2.^a ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1983; *Ion-Selective Methodology*, A. K. Covington, Ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1979; R. P. Buck, en *Comprehensive Treatise of Electrochemistry*, J. D. M. Bockris, B. C. Conway, H. E. Yager, Eds., Vol. 8, Capítulo 3. New York: Plenum Press, 1984.

TABLA 23-2. Tipos de electrodos de membrana selectivos de iones

- | |
|--|
| A. Electrodos de membrana cristalina |
| 1. Cristal único |
| Ejemplo: LaF_3 para F^- |
| 2. Policristalina o mezcla de cristales |
| Ejemplo: Ag_2S para S^{2-} y Ag^+ |
| B. Electrodos de membrana no cristalina |
| 1. Vidrio |
| Ejemplos: vidrios de silicato para Na^+ y H^+ |
| 2. Líquido |
| Ejemplos: líquidos intercambiadores de iones para Ca^{2+} y transportadores neutros para K^+ |
| 3. Líquido inmovilizado en un polímero rígido |
| Ejemplos: matriz de cloruro de polivinilo para Ca^{2+} y NO_3^- . |

del origen del potencial en los electrodos indicadores metálicos. Hemos visto que el potencial de un electrodo metálico tiene su origen en la tendencia de una reacción de oxidación/reducción a producirse en la superficie del electrodo. En los electrodos de membrana, por el contrario, el potencial observado es un tipo de potencial de unión que se desarrolla en la membrana que separa la disolución del analito de la disolución de referencia.

23C-2. Propiedades de las membranas selectivas de iones

Todas las membranas selectivas de iones en los electrodos que se muestran en la Tabla 23-2 presentan propiedades comunes, que proporcionan la sensibilidad y la selectividad de los electrodos de membrana hacia ciertos cationes y aniones. Estas propiedades son:

- 1. Mínima solubilidad.** Una propiedad necesaria de un medio selectivo de iones es que su solubilidad en las disoluciones del analito (generalmente acuosas) se aproxime a cero. Así, muchas membranas están formadas por moléculas grandes o agregados moleculares tales como los vidrios de sílice o resinas poliméricas. Los compuestos inorgánicos iónicos de baja solubilidad, tales como los haluros de plata, también se pueden convertir en membranas.
- 2. Conductividad eléctrica.** Una membrana debe presentar algo de conductividad eléctrica

aunque sea pequeña. Generalmente, esta conducción se debe a la migración en el interior de la membrana de iones con una sola carga.

- 3. Reactividad selectiva con el analito.** La membrana o alguna de las especies contenida en la matriz de la membrana deben ser capaces de unirse selectivamente con los iones del analito. Se encuentran tres tipos de uniones: por intercambio iónico, por cristalización y por complejación. Los dos primeros son los más comunes, y aquí la atención se centrará principalmente en estos dos tipos de uniones.

23C-3. El electrodo de vidrio para medidas de pH

Empezaremos la discusión acerca de cómo están contruidos los electrodos de membrana de plon y de cómo funcionan examinando con algún detalle el electrodo de vidrio para medidas de pH. La elección de este tipo de membrana para empezar la discusión es, quizás, apropiada puesto que el electrodo de vidrio para el pH es anterior en varias décadas a todos los demás electrodos de membrana.

Desde principios de los años treinta, la manera más adecuada de determinar el pH ha sido midiendo la diferencia de potencial a través de una membrana de vidrio que separa la disolución del analito de una disolución de referencia de acidez fija. El fenómeno en que se basa esta medida fue identificado por primera vez por Cremer⁹ en 1906 e investigado sistemáticamente por Haber¹⁰ pocos años después. La Figura 23-2 representa el electrodo de vidrio utilizado por Haber en sus tempranos estudios. La generalización del uso del electrodo de vidrio para medidas de pH, sin embargo, se retrasó unas dos décadas hasta la invención del tubo de vacío que permitiría la adecuada medida de potenciales a través de membranas de vidrio que tienen resistencias iguales o superiores a 100 MΩ. Los estudios sistemáticos de la sensibilidad de las membranas de vidrio frente al pH llevaron finalmente a finales de la década de los sesenta al desarrollo y comercialización de electrodos de membrana para dos docenas o más de iones tales como K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , F^- y NO_3^- .

⁹ M. Cremer, *Z. Biol.*, **1906**, 47, 562.

¹⁰ F. Haber y Z. Klemensiewicz, *Z. Phys. Chem.*, **1909**, 67, 385.

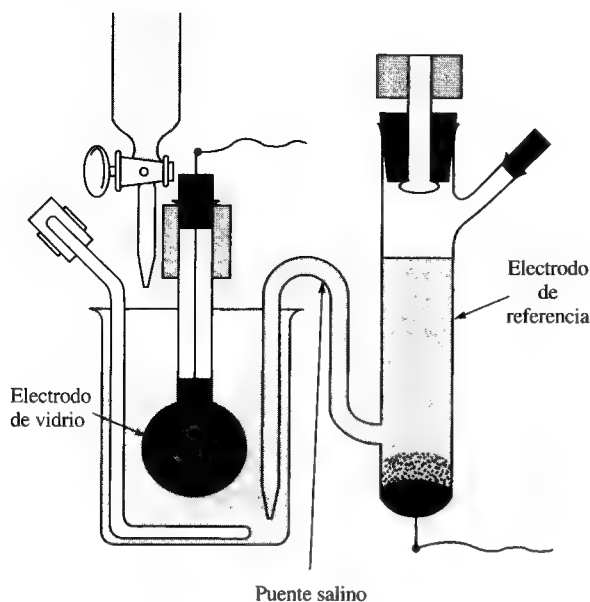


Figura 23-2. Uno de los primeros sistemas electrodo de vidrio/electrodo de calomelanos utilizado para medir el pH. (Tomado de Haber y Klemensiewicz, *Z. Phys. Chem.*, **1909**, 67, 385.)

La Figura 23-3 muestra una *celda* moderna característica para medir el pH. La celda consiste en un electrodo indicador de vidrio y un electrodo de referencia de plata/cloruro de plata o de calomelanos saturado sumergidos en una disolución cuyo pH se va a determinar. El electrodo indicador consiste en una delgada membrana de vidrio sensible al pH sellada en el extremo de un tubo de vidrio de paredes gruesas o de plástico. El tubo contiene un pequeño volumen de ácido clorhídrico diluido saturado con cloruro de plata (la disolución interna en algunos electrodos es un tampón que contiene ion cloruro). En esta disolución un alambre de plata forma un electrodo de referencia de plata/cloruro de plata, que se conecta a una de las terminales de un dispositivo para medir el potencial. El electrodo de referencia se conecta a la otra terminal.

La Figura 23-4, que es una representación esquemática de la celda de la Figura 23-3, muestra que esta celda contiene *dos* electrodos de referencia: (1) el electrodo *externo* de plata/cloruro de plata (ref 1) y (2) el electrodo *interno* de plata cloruro de plata (ref 2). Aunque el electrodo de referencia interno es una parte del electrodo de vidrio, *no es el elemento sensible al pH*. En cambio, *es la delgada membrana de vidrio, en la base del electrodo, la que responde al pH*.

Composición y estructura de las membranas de vidrio

Muchas investigaciones sistemáticas se han dedicado al estudio de los efectos de la composición del vidrio en la sensibilidad de las membranas frente a protones y otros cationes, y actualmente se utilizan un cierto número de formulaciones para la fabricación de electrodos. El vidrio Corning 015, que ha sido muy utilizado en las membranas, consta de aproximadamente un 22 por 100 de Na_2O , 6 por 100 de CaO y 72 por 100 de SiO_2 . Esta membrana tiene una respuesta específica a los iones hidrógeno hasta un pH de aproximadamente 9. A valores superiores, sin embargo, el vidrio empieza a dar una cierta respuesta al sodio, al igual que a otros cationes monovalentes. Actualmente se utilizan otras formulaciones de vidrio que sustituyen los iones sodio y calcio en diversos grados por iones bario y litio. Estas membranas tienen una selectividad superior a pH elevados.

La Figura 23-5, es una representación bidimensional de la estructura de una membrana de vidrio de silicato. Cada átomo de silicio se muestra enlazado a tres átomos de oxígeno en el plano del papel. Además, cada uno se enlaza a otro oxígeno por encima o por debajo del plano. De esta forma, el vidrio consiste en una red tridimensional infinita de grupos SiO_4^{4-} en la que cada silicio está enlazado a cuatro átomos de oxígeno y cada oxígeno es compartido por dos silicios. Dentro de los intersticios de esta estructura hay suficientes cationes para compensar la carga negativa de los grupos silicato. Los cationes monovalentes, tales como el sodio y el litio, se pueden mover en la red y son los responsables de la conducción eléctrica en el interior de la membrana.

La higroscopicidad de las membranas de vidrio

La superficie de una membrana de vidrio debe estar hidratada antes de funcionar como electrodo de pH. La cantidad de agua implicada es de aproximadamente 50 mg por centímetro cúbico de vidrio. Los vidrios no higroscópicos no responden al pH. Incluso los vidrios higroscópicos pierden su sensibilidad al pH después de su deshidratación por almacenamiento sobre un desecante. Sin embargo, el efecto es reversible y se recupera la respuesta del electrodo de vidrio después de remojarlo en agua.

La hidratación de una membrana de vidrio sensible al pH consiste en una reacción de intercambio iónico entre los cationes monovalentes de la red

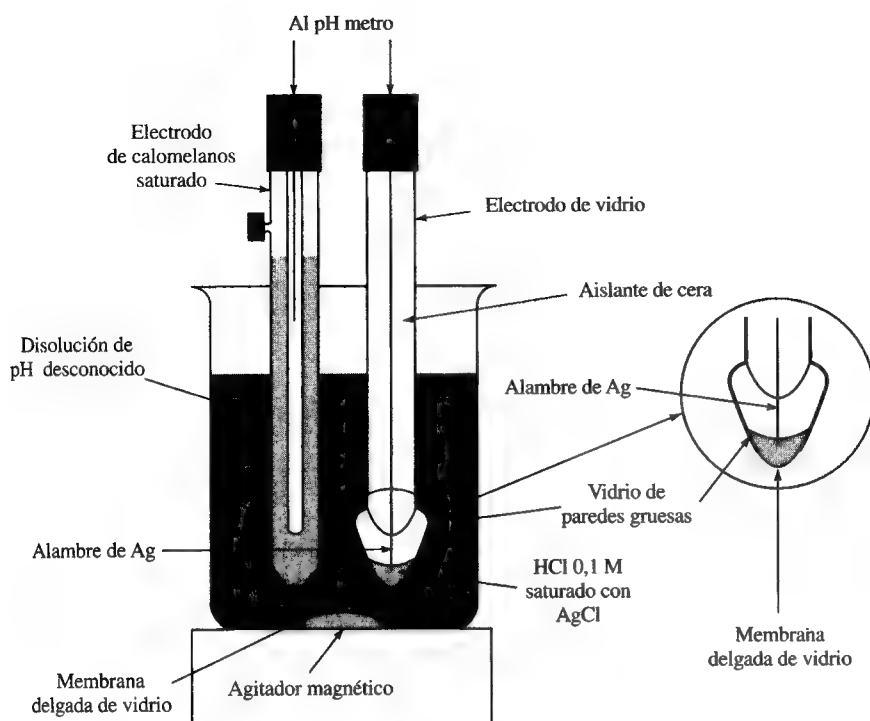
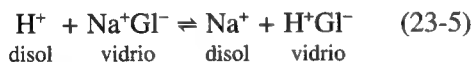


Figura 23-3. Sistema de electrodos típico para medir el pH.

del vidrio y los protones de la disolución. Este proceso implica exclusivamente a los cationes monovalentes ya que los cationes di y trivalentes están demasiado fuertemente retenidos en la estructura del silicato para poder intercambiarse con iones de la disolución. En general, la reacción de intercambio iónico se puede entonces escribir como:



La constante de equilibrio de este proceso es tan grande que la superficie de una membrana de vidrio hidratado consta, normalmente, tan sólo, de

grupos de ácido silícico ($\text{H}^+ \text{Gl}^-$). Una excepción a esta situación se presenta en medios fuertemente alcalinos, donde la concentración del ion hidrógeno es extremadamente baja y la concentración de ion sodio es elevada; en este caso, una fracción significativa de las posiciones está ocupada por iones sodio.

Conducción eléctrica a través de las membranas de vidrio

Para que una membrana de vidrio sirva como indicador de cationes, debe conducir la electricidad. La conducción en el interior de la capa de gel hidratado se debe al movimiento de iones hidrógeno. Los

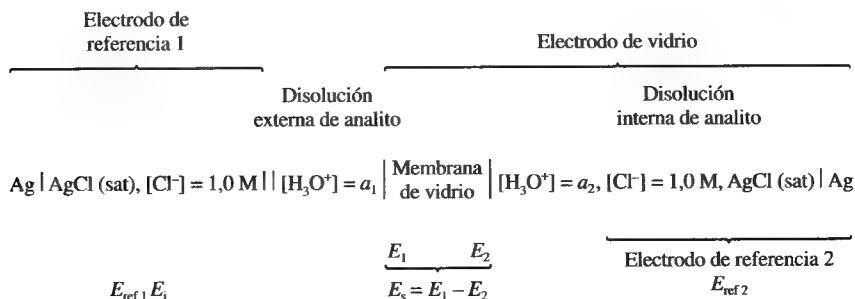


Figura 23-4. Diagrama de una celda para medir el pH.

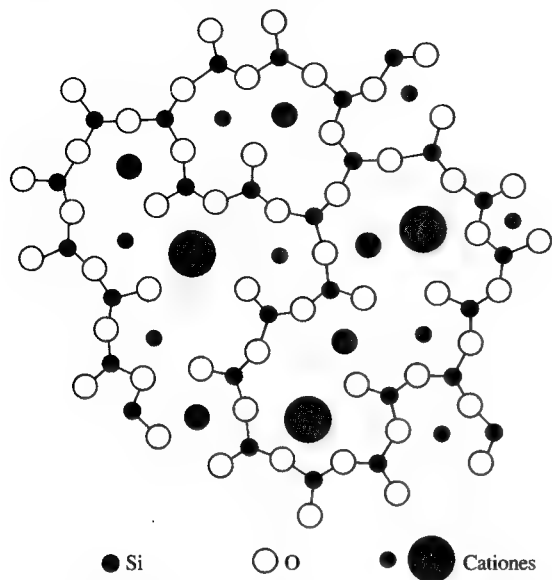


Figura 23-5. Vista de la sección transversal de la estructura de un vidrio de silicato. Además de los tres enlaces Si—O que se muestran, cada silicio se enlaza a un átomo de oxígeno adicional, por encima o por debajo del plano del papel. (Adaptado con permiso de G. A. Perley, *Anal. Chem.*, **1949**, 21, 395. Copyright 1949 American Chemical Society.)

iones sodio son los portadores de carga en el interior seco de la membrana. La conducción a través de las interfases disolución/gel tiene lugar por medio de las reacciones



donde el subíndice 1 se refiere a la interfase entre el vidrio y la disolución del analito y el subíndice 2 se refiere a la interfase entre la disolución interna y el vidrio. Las posiciones de estos dos equilibrios están determinadas por las actividades del ion hidrógeno en las disoluciones que se encuentran a ambos lados de la membrana. La superficie en la que tiene lugar una mayor disociación se hace negativa con respecto a la otra superficie donde ha tenido lugar una menor disociación. Se desarrolla así un potencial de superficie E_s a través de la membrana. La magnitud del potencial de superficie depende de la relación de las actividades de ion hidrógeno en las dos disoluciones. Es esta diferen-

cia de potencial la que sirve como parámetro analítico en las medidas potenciométricas del pH con un electrodo de membrana.

Potenciales de membrana

La parte inferior de la Figura 23-4 muestra cuatro potenciales que se desarrollan en una celda cuando se está determinando el pH con un electrodo de vidrio. Dos de éstos, E_{ref1} y E_{ref2} , son los potenciales de los electrodos de referencia. El tercer potencial es el potencial de unión E_j a través del puente salino que separa el electrodo de calomelanos de la disolución del analito. Los potenciales de unión se encuentran en todas las celdas utilizadas para la medida potenciométrica de la concentración de iones. El cuarto, y el más importante potencial que se muestra en la Figura 23-4 es el *potencial de superficie*, E_s , que varía con el pH de la disolución del analito. Los dos electrodos de referencia únicamente proporcionan los contactos eléctricos con las dos disoluciones, de forma que se puedan medir los cambios en el potencial de superficie.

La Figura 23-4 revela que el potencial de un electrodo de vidrio tiene dos componentes: el potencial fijo de un electrodo de plata/cloruro de plata E_{ref2} y el potencial de superficie E_s que depende del pH. Existe un tercer potencial que no se muestra, llamado *potencial de asimetría*, que se encuentra en la mayoría de los electrodos de membrana y que cambia lentamente con el tiempo. El origen del potencial de asimetría no está claro.

El potencial de superficie

Como se muestra en la Figura 23-4, el potencial de superficie consta de dos potenciales, E_1 y E_2 , cada uno de los cuales está asociado con una de las dos interfases gel/disolución. El potencial de superficie es simplemente la diferencia entre estos potenciales:

$$E_s = E_1 - E_2 \quad (23-8)$$

Se puede demostrar a partir de consideraciones termodinámicas¹¹ que E_1 y E_2 en la Ecuación 23-8 están relacionados con las actividades de ion hidrógeno a cada lado por relaciones tipo la de Nernst:

¹¹ G. Eisenman, *Biophys. J.*, **1962**, 2 (parte 2), 259.

$$E_1 = j_1 - \frac{0,0592}{n} \log \frac{a'_1}{a_1} \quad (23-9)$$

$$E_2 = j_2 - \frac{0,0592}{n} \log \frac{a'_2}{a_2} \quad (23-10)$$

donde j_1 y j_2 son constantes y a_1 y a_2 son respectivamente, las actividades de H^+ en las *disoluciones* de los lados externo e interno de la membrana. Los términos a'_1 y a'_2 son las actividades del H^+ en la superficie externa e interna del vidrio que constituye la membrana.

Si las dos superficies de la membrana tienen el mismo número de posiciones cargadas negativamente (como ocurre normalmente) desde donde el H^+ se pueda disociar, entonces j_1 y j_2 son idénticas; también lo son a'_1 y a'_2 . Sustituyendo las Ecuaciones 23-9 y 23-10 en la Ecuación 23-8 y empleando las igualdades $j_1 = j_2$ y $a'_1 = a'_2$, se obtiene, después de reordenar

$$E_s = E_1 - E_2 = 0,0592 \log \frac{a_1}{a_2} \quad (23-11)$$

Así, el potencial de superficie E_s depende sólo de las actividades del ion hidrógeno en las disoluciones a ambos lados de la membrana. En el electrodo de vidrio de pH, la actividad del ion hidrógeno en la disolución interna a_2 se mantiene constante por lo que la Ecuación 23-11 se simplifica a

$$E_s = L' + 0,0592 \log a_1 = L' - 0,0592 \text{ pH} \quad (23-12)$$

donde

$$L' = -0,0592 \log a_2$$

El potencial de superficie es entonces una medida de la actividad de ion hidrógeno en la disolución externa.

El significado de los potenciales y de sus diferencias que aparecen en la Ecuación 23-11 se ilustra con los perfiles de potencial mostrados en la Figura 23-6. Los perfiles se representan a través de la membrana desde la disolución del analito a la izquierda atravesando la membrana hasta la disolución interna de la derecha.

Potencial del electrodo de vidrio

Como se señaló anteriormente, el potencial de un electrodo indicador de vidrio E_{ind} tiene tres compo-

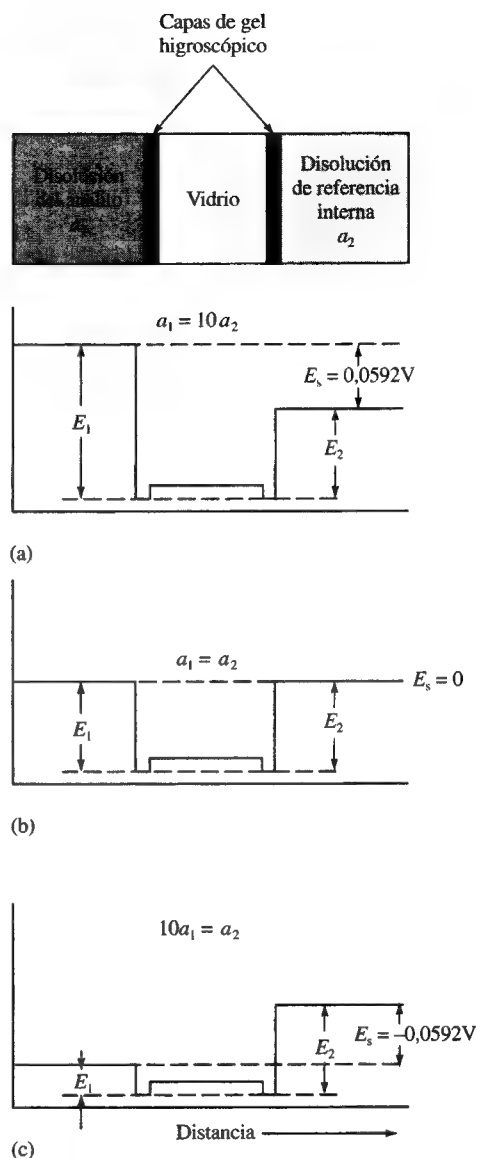


Figura 23-6. Perfil del potencial a través de una membrana de vidrio desde la disolución del analito hasta la disolución interna de referencia. No se muestran los potenciales de los electrodos de referencia.

nentes: (1) el potencial de superficie, dado por la Ecuación 23-12, (2) el potencial E_{ref2} del electrodo de referencia interno $Ag/AgCl$, y (3) un pequeño potencial de asimetría, E_{asi} . En forma de ecuación

$$E_{\text{ind}} = E_s + E_{\text{ref2}} + E_{\text{asi}}$$

Si se sustituye E_s por la Ecuación 23-12 se obtiene

$$E_{\text{ind}} = L' + 0,0592 \log a_1 + E_{\text{ref2}} + E_{\text{asi}}$$

O

$$E_{\text{ind}} = L + 0,0592 \log a_1 = L - 0,0592 \text{ pH} \quad (23-13)$$

donde L es una combinación de los tres términos constantes. Esto es,

$$L = L' + E_{\text{ref2}} + E_{\text{asi}} \quad (23-14)$$

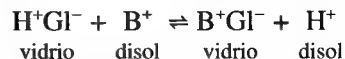
Obsérvese la similitud entre la Ecuación 22-13 y las Ecuaciones 23-1 y 23-4 para los electrodos metálicos indicadores de cationes. Es importante resaltar que aunque las dos últimas ecuaciones son similares a la Ecuación 23-13, los orígenes del potencial de los electrodos que describen *son totalmente diferentes*, uno es un potencial redox, mientras que el otro es un potencial de superficie en el cual no tiene lugar ninguna reacción de oxidación/reducción.

Error alcalino

En disoluciones básicas, los electrodos de vidrio responden a la concentración tanto del ion hidrógeno como de los iones de los metales alcalinos. En la Figura 23-7 (curvas de la C a la F) se muestra la magnitud de este *error alcalino* para cuatro membranas de vidrio diferentes. Estas curvas se refieren a disoluciones en las que la concentración de ion sodio, 1 M, se mantuvo constante mientras que se variaba el pH. Obsérvese que el error es negativo (esto es, los valores de pH que se midieron fueron más bajos que los valores verdaderos), lo que sugiere que el electrodo responde tanto a los iones sodio como a los protones. Esta observación se confirma con datos obtenidos de disoluciones que contienen diferentes concentraciones de ion sodio. Así a pH 12, el electrodo con una membrana Corning 015 (curva C en la Figura 23-7) registra un pH de 11,3 cuando se sumerge en una disolución que tiene una concentración 1 M de ion sodio pero registra 11,7 en una disolución que es 0,1 M en este ion. Todos los cationes monovalentes inducen un error alcalino cuya magnitud depende tanto del catión en cuestión como de la composición de la membrana de vidrio.

El error alcalino puede explicarse satisfactoriamente suponiendo un equilibrio de intercambio en-

tre los iones hidrógeno de la superficie del vidrio y los cationes de la disolución. Este proceso es simplemente el inverso del mostrado en la Ecuación 23-5, o



donde B^+ representa cualquier catión monovalente, tal como el ion sodio. En este caso, la actividad de los iones sodio en relación con la de los iones hidrógeno se hace tan grande que el electrodo responde a ambas especies.

Coefficientes de selectividad

El efecto de un ion de un metal alcalino sobre el potencial a través de la membrana puede tomarse en cuenta insertando un término adicional en la Ecuación 23-12 para dar

$$E_s = L' + 0,0592 \log (a_1 + k_{\text{H,B}} b_1) \quad (23-15)$$

donde $k_{\text{H,B}}$ es el *coeficiente de selectividad* del electrodo y b_1 es la actividad del ión del metal alcalino. La Ecuación 23-15 se aplica no sólo a los electrodos indicadores de vidrio para el ion hidrógeno, sino también a todos los otros tipos de electrodos de membrana. Los coeficientes de selectividad van desde cero (no hay interferencia) a valores mayores que la unidad. Un coeficiente de selectividad igual a uno significa que el electrodo responde por igual al ion del analito y al ion interferente. Si un electrodo para un ion A responde 20 veces más al ion B que al ion A, entonces $k_{\text{A,B}}$ tiene un valor de 20. Si la respuesta del electrodo para el ion C es 0,001 veces su respuesta para A (una situación mucho más deseable), $k_{\text{A,C}}$ es 0,001¹².

El producto $k_{\text{H,B}} b_1$ para el electrodo de vidrio de pH es normalmente pequeño respecto a a_1 siempre que el pH sea inferior a 9; en esas condiciones, la Ecuación 23-15 se simplifica y da la Ecuación 23-13. Sin embargo, a valores de pH elevados y a elevadas concentraciones de iones monovalentes, el segundo término de la Ecuación 23-15 desempeña un papel más importante en la determinación de E_s y se observa un error alcalino. En los electrodos diseñados específicamente para traba-

¹² Para un listado de coeficientes de selectividad para todos los tipos de electrodos selectivos de iones, véase Y. Umezawa, *CRC Handbook of Ion Selective Electrodes: Selectivity of Coefficients*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1990.

jar en medios fuertemente alcalinos (curva E en la Figura 23-7), la magnitud de $k_{H,B}b_1$ es apreciablemente menor que en los electrodos de vidrio ordinarios.

Error ácido

Como se muestra en la Figura 23-7, el electrodo típico de vidrio presenta un error en disoluciones de pH inferior a 0,5, de signo opuesto al error alcalino; los pH que se leen tienden a ser demasiado elevados en esta región. La magnitud del error depende de una diversidad de factores y no es generalmente muy reproducible. Las causas del error ácido no se entienden bien.

23C-4. Electrodos de vidrio para otros cationes

El error alcalino en los primeros electrodos de vidrio llevó a investigaciones sobre el efecto de la composición del vidrio en la magnitud de este error. Una consecuencia ha sido el desarrollo de vidrios para los que el error alcalino es despreciable por debajo de un pH de aproximadamente 12. Otros estudios han descubierto composiciones de vidrios que permiten la determinación de cationes diferentes del ion hidrógeno. Esta aplicación requiere que la actividad del ion hidrógeno a_1 en la Ecuación 23-15 sea despreciable respecto a $k_{H,B}b_1$:

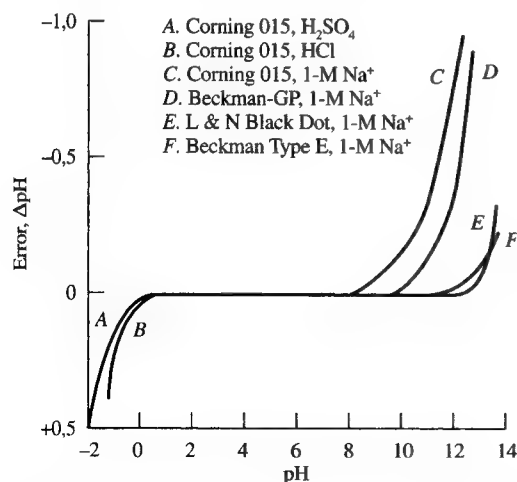


Figura 23-7. Error ácido y alcalino de algunos electrodos de vidrio a 25 °C. (De R. G. Bates, *Determination of pH: Theory and Practice*, pág. 316. New York: Wiley, 1964. Reproducido con permiso de John Wiley & Sons, Inc.).

en estas circunstancias, el potencial es independiente del pH y en su lugar es función del pB. La incorporación de Al_2O_3 o B_2O_3 en el vidrio da el efecto deseado. Se han desarrollado electrodos de vidrio que permiten la medida potenciométrica directa de especies monovalentes tales como Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Rb^+ , Cs^+ , Li^+ y Ag^+ . Algunos de estos vidrios son razonablemente selectivos a cationes monovalentes concretos. Actualmente se hallan disponibles de fuentes comerciales electrodos de vidrio para Na^+ , Li^+ , NH_4^+ y concentración total de cationes monovalentes.

23C-5. Electrodos de membrana cristalina

Los tipos más importantes de membranas cristalinas se fabrican a partir de un compuesto iónico o de una mezcla homogénea de compuestos iónicos. En algunos casos la membrana se corta de un monocristal; en otros, se forman discos mediante presiones elevadas a partir del sólido cristalino finamente molido o a partir del producto fundido. Una membrana característica tiene un diámetro de alrededor de 10 mm y un espesor de 1 a 2 mm. Para formar un electrodo, la membrana se sella al final de un tubo construido con un plástico químicamente inerte tal como Teflón o cloruro de polivinilo.

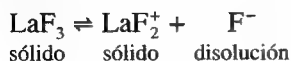
Conductividad de las membranas cristalinas

La mayoría de los cristales iónicos son aislantes y no tienen suficiente conductividad eléctrica a temperatura ambiente como para servir de electrodos de membrana. Los que son conductores se caracterizan por tener un pequeño ion monovalente móvil en la fase sólida. Algunos ejemplos son, el ion fluoruro en ciertos fluoruros de tierras raras, el ion plata en haluros y sulfuros, el ion cobre(I) en sulfuro de cobre(I).

El electrodo de fluoruros

El fluoruro de lantano, LaF_3 , es casi una sustancia ideal para la preparación de un electrodo de membrana cristalina para la determinación de ion fluoruro. Aunque este compuesto es un conductor natural, su conductividad puede exaltarse mediante dopado con fluoruro de europio, EuF_2 . Las membranas se preparan cortando discos a partir de un monocristal del compuesto dopado.

El mecanismo de desarrollo de un potencial sensible al fluoruro a través de una membrana de fluoruro de lantano es bastante análogo al descrito para las membranas de vidrio sensibles al pH. Esto es, la ionización crea una carga en la superficie de la membrana en las dos interfases, como se muestra en la ecuación



La magnitud de la carga depende de la concentración de ion fluoruro en la disolución. Así, el lado de la membrana que encuentra una concentración de ion fluoruro más baja se hace positivo con respecto a la otra superficie; es esta diferencia de carga la que proporciona una medida de la diferencia de concentración de ion fluoruro en las dos disoluciones. El potencial de una celda que contiene un electrodo de fluoruro de lantano viene dado por una ecuación análoga a la Ecuación 23-13. Esto es,

$$E_{\text{ind}} = L - 0,0592 \log a_{\text{F}^-} = L + 0,0592 \text{ pF} \quad (23-16)$$

Obsérvese que están cambiados los signos de los segundos miembros de la derecha debido a que se está determinando un anión (véase también Ecuación 23-2).

Los electrodos comercializados de fluoruro de lantano tienen diferentes formas y tamaños y se pueden conseguir a través de diferentes casas comerciales. La mayoría son robustos y pueden utilizarse a temperaturas entre 0 °C y 80 °C. La respuesta del electrodo de fluoruro es lineal hasta 10^{-6} M (0,02 ppm), por debajo de la cual la solubilidad del fluoruro de lantano empieza a contribuir a la concentración de ion fluoruro en la disolución del analito. El único ion que interfiere directamente en las medidas de fluoruro es el ion hidróxido; esta interferencia empieza a ser seria a pH superiores a ocho. A pH inferiores a cinco, los iones hidrógeno también interfieren en las determinaciones del fluoruro *total*; en este caso, se forma fluoruro de hidrógeno no disociado frente al cual el electrodo no responde. En la mayoría de los aspectos, el electrodo de ion fluoruro se acerca al ideal de los electrodos selectivos.

Electrodos basados en sales de plata

Las membranas fabricadas a partir de un único cristal o de discos prensados de varios haluros de

plata, actúan selectivamente hacia los iones haluro y plata. Generalmente, sin embargo, su comportamiento está lejos del ideal, debido a su baja conductividad, baja resistencia mecánica, y a su tendencia a desarrollar elevados potenciales fotoeléctricos. Sin embargo, se ha encontrado que estas desventajas se minimizan si las sales de plata se mezclan con sulfuro de plata cristalino en una relación molar aproximada de 1:1. Las mezclas homogéneas se forman a partir de disoluciones equimolares de iones sulfuro y haluro por precipitación con nitrato de plata. Después de lavar y secar el precipitado, se moldea en forma de disco bajo la acción de una presión de 7×10^3 Kp/cm². El disco resultante presenta una buena conductividad eléctrica debido a la movilidad del ion plata en la matriz de sulfuro.

Las membranas construidas tanto con sulfuro de plata como con una mezcla de sulfuro de plata y otra sal de plata, son útiles para la determinación de iones sulfuro y de iones plata. Respecto a los iones plata, la respuesta eléctrica es similar a la de un electrodo metálico de primera clase (a pesar de que el mecanismo de actividad es completamente diferente). Respecto a los iones sulfuro, la respuesta eléctrica de una membrana de sulfuro de plata es similar a la de un electrodo de segunda clase (Apartado 23B-2). Aquí, una vez sumergido en la disolución a analizar, la disolución de una pequeñísima cantidad de sulfuro de plata satura rápidamente la capa de líquido adyacente al electrodo. Sin embargo, la solubilidad y, por tanto, la concentración de ion plata dependen de la concentración de sulfuro del analito.

Se encuentran también membranas cristalinas que consisten en mezclas homogéneas de sulfuro de plata con sulfuros de cobre(II), plomo o cadmio. Respecto a estos cationes divalentes, los electrodos de estos materiales tienen una respuesta eléctrica similar a la de los electrodos de tercera clase (Apartado 23B-3). Hay que resaltar que estos sulfuros divalentes, por ellos mismos, no son conductores y por tanto no presentan actividad selectiva de iones.

La Tabla 23-3 da una lista representativa de los electrodos de estado sólido que se pueden encontrar en fuentes comerciales.

23C-6. Electrodos de membrana líquida

Las membranas líquidas se forman a partir de líquidos inmiscibles que se unen selectivamente con algunos iones. Las membranas de este tipo son parti-

TABLA 23-3. Electrodos comerciales de estado sólido^a

Ion analito	Intervalo de concentraciones, M	Interferencias ^b
Br ⁻	10 ⁰ a 5 × 10 ⁻⁶	rm: 8 × 10 ⁻⁵ CN ⁻ ; 2 × 10 ⁻⁴ I ⁻ ; 2 NH ₃ ; 400 Cl ⁻ ; 3 × 10 ⁴ OH ⁻ . mba: S ²⁻
Cd ²⁺	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁷	Fe ²⁺ + Pb ²⁺ puede interferir. mba: Hg ²⁺ , Ag ⁺ , Cu ²⁺
Cl ⁻	10 ⁰ a 5 × 10 ⁻⁵	rm: 2 × 10 ⁻⁷ CN ⁻ ; 5 × 10 ⁻⁷ I ⁻ ; 3 × 10 ⁻³ Br ⁻ ; 10 ⁻² S ₂ O ₃ ²⁻ ; 0,12 NH ₃ ; 80 OH ⁻ . mba: S ²⁻
Cu ²⁺	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁸	niveles elevados Fe ²⁺ , Cd ²⁺ , Br ⁻ , Cl ⁻ . mba: Hg ²⁺ , Ag ⁺ , Cu ⁺
CN ⁻	10 ⁻² a 10 ⁻⁶	rm: 10 ⁻¹ I ⁻ ; 5 × 10 ³ Br ⁻ ; 10 ⁶ Cl ⁻ , mba: S ²⁻
F ⁻	sat a 10 ⁻⁶	0,1 M OH ⁻ da interferencia <10% cuando [F ⁻] = 10 ⁻³ M
I ⁻	10 ⁰ a 5 × 10 ⁻⁸	rm: 0,4 CN ⁻ ; 5 × 10 ³ Br ⁻ ; 10 ⁵ S ₂ O ₃ ²⁻ ; 10 ⁶ Cl ⁻
Pb ²⁺	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁶	mba: Hg ²⁺ , Ag ⁺ , Cu ²⁺
Ag ⁺ /S ²⁻	10 ⁰ a 10 ⁻⁷ Ag ⁺ 10 ⁰ a 10 ⁻⁷ S ²⁻	Hg ²⁺ debe ser menor que 10 ⁻⁷ M
SCN ⁻	10 ⁰ a 5 × 10 ⁻⁶	rm: 10 ⁻⁶ I ⁻ ; 3 × 10 ⁻³ Br ⁻ ; 7 × 10 ⁻³ CN ⁻ ; 0,13 S ₂ O ₃ ²⁻ ; 20 Cl ⁻ ; 100 OH ⁻ . mba: S ²⁻

^a De: *Handbook of Electrode Technology*, págs. 10-13, Apéndice, Orion Research: Cambridge, MA, 1982. Con permiso.

^b rm: relación máxima ($c_{\text{interferente}}/c_{\text{analito}}$) para no interferencia.

mba: debe estar ausente.

cularmente importantes porque permiten la determinación potenciométrica directa de las actividades de varios cationes polivalentes y también de algunos aniones y cationes monovalentes.

Las primeras membranas líquidas se preparaban a partir de líquidos inmiscibles intercambiado-

res de iones, que estaban retenidos en un soporte sólido inerte y poroso. Como se muestra esquemáticamente en la Figura 23-8 un disco poroso (dimensiones típicas: 3 × 0,15 mm) de plástico hidrófobo (que repele el agua) sirve para mantener la capa orgánica entre las dos disoluciones acuosas. El efecto de capilaridad hace que los poros del disco permanezcan llenos con el líquido orgánico procedente del depósito formado entre los dos tubos concéntricos. Para determinaciones de cationes divalentes, el tubo interno contiene una disolución acuosa patrón de MCl₂, donde M²⁺ es el catión cuya actividad se va a determinar. Esta disolución está también saturada con AgCl para formar un electrodo de referencia de Ag/ClAg con el conductor de alambre de plata.

Como alternativa al uso de un disco poroso como medio soporte rígido, recientemente se ha conseguido inmovilizar líquidos intercambiadores en membranas resistentes de cloruro de polivinilo. Aquí, el líquido intercambiador de iones y el cloruro de polivinilo se disuelven en un solvente tal como el tetrahidrofurano. La evaporación del disolvente da lugar a una membrana flexible, que puede cortarse y unirse al extremo de un tubo de plástico o de vidrio. Las membranas formadas de esta manera se comportan en gran parte de la misma forma que aquellas en las que el intercambiador de

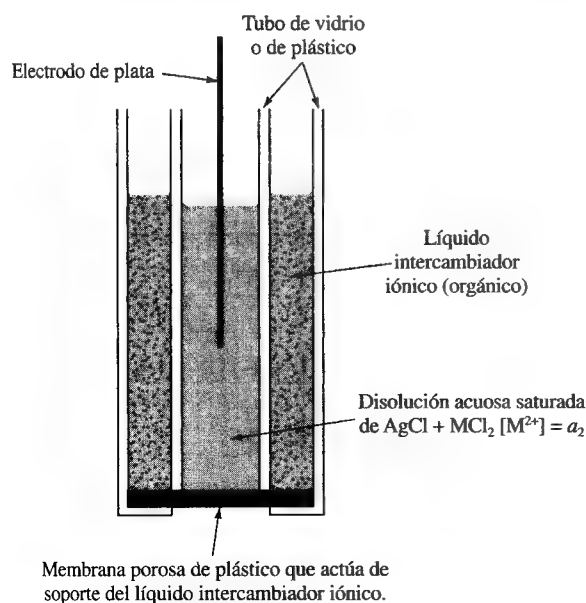
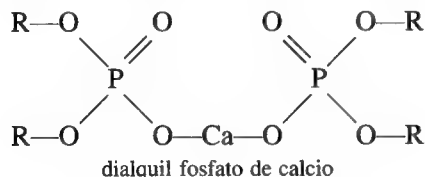


Figura 23-8. Electrodo de membrana líquida sensible a M²⁺.

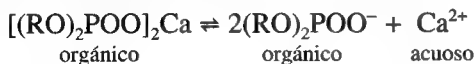
iones se mantiene como un líquido real en los poros del disco. En la actualidad, la mayoría de los electrodos de membrana líquida son de este nuevo tipo.

Las sustancias activas en las membranas líquidas son de tres tipos: (1) intercambiadores catiónicos; (2) intercambiadores aniónicos; y (3) compuestos neutros macrocíclicos, que complejan selectivamente a ciertos cationes.

Uno de los electrodos de membrana líquida más importante es el selectivo al ion calcio en medios aproximadamente neutros. El componente activo de la membrana es un intercambiador catiónico que consiste en un diéster alifático del ácido fosfórico disuelto en un disolvente apolar. El diéster contiene un único protón ácido; por tanto, reaccionan dos moléculas con el ion calcio divalente para formar un dialquilfosfato con la estructura



Donde R es un grupo alifático que contiene de 8 a 16 átomos de carbono. En los electrodos comerciales de este tipo, R es generalmente un grupo C₉. La disolución acuosa interna en contacto con el intercambiador (véase Fig. 23-8) contiene una concentración fija de cloruro de calcio y un electrodo de referencia de plata/cloruro de plata. El disco poroso (o la membrana de cloruro de polivinilo) que contiene el líquido intercambiador iónico separa la disolución del analito de la disolución de referencia de cloruro de calcio. El equilibrio establecido en cada interfase puede representarse como



Obsérvese la similitud de esta ecuación con la Ecuación 23-7 para el electrodo de vidrio. La relación entre el potencial y el pCa es también análoga a la del electrodo de vidrio (Ecuación 23-12). Por tanto,

$$\begin{aligned}
 E_{\text{ind}} &= L' + \frac{0,0592}{2} \log a_1 \\
 &= L' - \frac{0,0592}{2} \log \text{pCa} \quad (23-17)
 \end{aligned}$$

Sin embargo, en este caso, el segundo miembro de la derecha está dividido por dos debido a que el catión es divalente.

El electrodo de membrana para el calcio ha demostrado ser una herramienta valiosa en estudios fisiológicos ya que este ion juega papeles importantes en la conducción nerviosa, en la formación de los huesos, en la contracción muscular, en la conducción y contracción cardíaca y en la función tubular renal. Al menos algunos de estos procesos están más influidos por la actividad de ion calcio que por la concentración del mismo; por supuesto, la actividad es el parámetro medido por el electrodo.

Otro electrodo líquido específico de iones de gran valor en estudios fisiológicos es el de potasio. La selectividad de una membrana líquida para el potasio respecto al sodio es especialmente importante, ya que ambos iones están presentes en todos los sistemas vivos y juegan papeles importantes en la transmisión neuronal. Un cierto número de electrodos de membrana líquida prometen satisfacer estas necesidades; uno de ellos se basa en el antibiótico valinomicina, un éter macrocíclico sin carga que tiene una fuerte afinidad por el ion potasio. Es de gran importancia observar que una membrana líquida que consta de valinomicina en difenil éter responde 10⁴ veces más al ion potasio que al ion sodio¹³.

La Tabla 23-4 muestra un listado de algunos electrodos típicos de membrana líquida disponibles comercialmente. Los electrodos sensibles a aniones emplean una disolución de un intercambiador aniónico en un disolvente orgánico. Como se mencionó anteriormente, muchos de los llamados electrodos de membrana líquida son, de hecho, sólidos en los cuales el líquido se retiene en una matriz polimérica. Estos electrodos son algo más adecuados que los electrodos de disco poroso más antiguos.

23D. TRANSISTORES DE EFECTO DE CAMPO SELECTIVOS DE IONES (ISFET)

En el Apartado 2C-3 (Fig. 2-19), se describe el transistor de efecto de campo de óxido metálico se-

¹³ M. S. Frant y J. W. Ross Jr., *Science*, 1970, 167, 987.

TABLA 23-4. Electrodos de membrana líquida^{a, b}

Ion analito	Intervalo de concentraciones, M	Interferencias ^c
Ca ²⁺	10 ⁰ a 5 × 10 ⁻⁷	10 ⁻⁵ Pb ²⁺ ; 4 × 10 ⁻³ Hg ²⁺ , H ⁺ ; 6 × 10 ⁻³ Sr ²⁺ ; 2 × 10 ⁻² Fe ²⁺ ; 4 × 10 ⁻² Cu ²⁺ ; 5 × 10 ⁻² Ni ²⁺ ; 0,2 NH ₃ ; 0,2 Na ⁺ ; 0,3 Tris ⁺ ; 0,3 Li ⁺ ; 0,4 K ⁺ ; 0,7 Ba ²⁺ ; 1,0 Zn ²⁺ ; 1,0 Mg ²⁺
BF ₄ ⁻	10 ⁰ a 7 × 10 ⁻⁶	5 × 10 ⁻⁷ ClO ₄ ⁻ ; 5 × 10 ⁻⁶ I ⁻ ; 5 × 10 ⁻⁵ ClO ₃ ⁻ ; 5 × 10 ⁻⁴ CN ⁻ ; 10 ⁻³ Br ⁻ ; 10 ⁻³ NO ₂ ⁻ ; 5 × 10 ⁻³ NO ₃ ⁻ ; 3 × 10 ⁻³ HCO ₃ ⁻ ; 5 × 10 ⁻² Cl ⁻ ; 8 × 10 ⁻² H ₂ PO ₄ ⁻ ; HPO ₄ ²⁻ ; PO ₄ ³⁻ ; 0,2 OAc ⁻ ; 0,6 F ⁻ ; 1,0 SO ₄ ²⁻
NO ₃ ⁻	10 ⁰ a 7 × 10 ⁻⁶	10 ⁻⁷ ClO ₄ ⁻ ; 5 × 10 ⁻⁶ I ⁻ ; 5 × 10 ⁻⁵ ClO ₃ ⁻ ; 10 ⁻⁴ CN ⁻ ; 7 × 10 ⁻⁴ Br ⁻ ; 10 ⁻³ HS ⁻ ; 10 ⁻² HCO ₃ ⁻ ; 2 × 10 ⁻² CO ₃ ²⁻ ; 3 × 10 ⁻² Cl ⁻ ; 5 × 10 ⁻² H ₂ PO ₄ ⁻ ; HPO ₄ ²⁻ ; PO ₄ ³⁻ ; 0,2 OAc ⁻ ; 0,6 F ⁻ ; 1,0 SO ₄ ²⁻
ClO ₄ ⁻	10 ⁰ a 7 × 10 ⁻⁶	2 × 10 ⁻³ I ⁻ ; 2 × 10 ⁻² ClO ₃ ⁻ ; 4 × 10 ⁻² CN ⁻ , Br ⁻ ; 5 × 10 ⁻² NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ ; 2 HCO ₃ ⁻ , CO ₃ ²⁻ , Cl ⁻ , H ₂ PO ₄ ⁻ , HPO ₄ ²⁻ , PO ₄ ³⁻ , OAc ⁻ , F ⁻ , SO ₄ ²⁻
K ⁺	10 ⁰ a 10 ⁻⁶	3 × 10 ⁻⁴ Cs ⁺ ; 6 × 10 ⁻³ NH ₄ ⁺ , Tl ⁺ ; 10 ⁻² H ⁺ ; 1,0 Ag ⁺ , Tris ⁺ ; 2,0 Li ⁺ , Na ⁺
Dureza del agua (Ca ²⁺ + Mg ²⁺)	10 ⁻³ a 6 × 10 ⁻⁶	3 × 10 ⁻⁵ Cu ²⁺ , Zn ²⁺ ; 10 ⁻⁴ Ni ²⁺ ; 4 × 10 ⁻⁴ Sr ²⁺ ; 6 × 10 ⁻⁵ Fe ²⁺ ; 6 × 10 ⁻⁴ Ba ²⁺ ; 3 × 10 ⁻² Na ⁺ ; 0,1 K ⁺

^a De: *Handbook of Electrode Technology*, págs. 10-13, Apéndice, Orion Research: Cambridge, MA, 1982. Con permiso.

^b Todos los electrodos, excepto el último, son del nuevo tipo en el que el líquido intercambiador o transportador neutro está sobre una matriz de plástico.

^c Los números al lado de cada ion representan la concentración molar a la que este ion provoca un error del 10 por 100 cuando la concentración del analito es 10⁻³ M.

miconductor (MOSFET), que es muy utilizado en ordenadores y otros circuitos electrónicos como interruptor para controlar el flujo de corriente en los circuitos. Uno de los problemas en el empleo de este tipo de dispositivo en los circuitos electrónicos ha sido su pronunciada sensibilidad a las impurezas iónicas en su superficie, y la industria electrónica ha dedicado una gran cantidad de dinero y esfuerzo para minimizar o eliminar esta sensibilidad con el fin de producir transistores estables.

Desde 1970, varios científicos han intentado explotar la sensibilidad de los MOSFET a las impurezas iónicas en su superficie para la determinación potenciométrica selectiva de varios iones. Estos estudios han conducido al desarrollo de un cierto número de diferentes *transistores de efecto de campo selectivos de iones* denominados ISFET. La teoría de su selectiva sensibilidad a iones es bien comprendida y se describe en la sección siguiente¹⁴.

23D-1. Mecanismo del comportamiento selectivo de iones del ISFET

Un transistor de efecto de campo selectivo de iones es muy similar en construcción y funcionamiento a un transistor de efecto de campo de puerta aislada MOSFET (página 45). El ISFET se diferencia sólo en que la variación de la concentración de los iones de interés proporciona el potencial variable de puerta para controlar la conductividad del canal. Como se muestra en la Figura 23-9, en lugar del contacto metálico usual, la puerta de un ISFET está recubierta con una capa aislante de nitruro de silicio (Si₃N₄). La disolución del analito, que contiene iones hidronio en este ejemplo, está en contacto con esta capa aislante y con un electrodo de referencia. La superficie del aislante de la puerta funciona muy parecido a la superficie de un electrodo de vidrio. Los protones procedentes de los iones hidronio de la disolución a ensayo son adsorbidos por posiciones microscópicas en el nitruro de silicio. Cualquier cambio en la concentración de ion hidronio de la disolución provoca un cambio en la

¹⁴ Para una breve revisión de los ISFET, véase J. N. Zermel, *Anal. Chem.*, **1975**, *47*, 255A; T. Matsuo y M. Esachi, *Sensors and Activation*, **1981**, *1*, 77; Y. G. Vlasov y Z. Fresenius, *Anal. Chem.*, **1989**, *335*, 96.

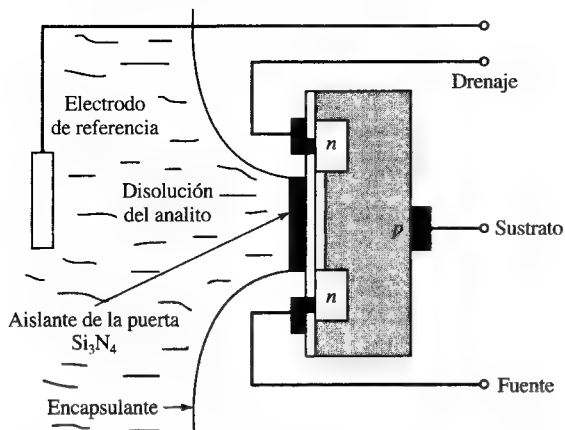


Figura 23-9. Transistor de efecto de campo selectivo de iones (ISFET) para medir el pH.

concentración de los protones adsorbidos. El cambio en la concentración de protones adsorbidos da origen a un cambio del potencial electroquímico entre la puerta y la fuente, lo que a su vez varía la conductividad del canal del ISFET. Se puede controlar electrónicamente la conductividad del canal para proporcionar una señal que sea proporcional al logaritmo de la concentración de ion hidronio en la disolución. Obsérvese que todo el ISFET excepto el aislante de la puerta está recubierto de un encapsulante polimérico para aislar todas las conexiones eléctricas de la disolución del analito.

23D-2. Aplicaciones de los ISFET

La superficie sensible a iones de un ISFET es sensible naturalmente a las variaciones en el pH, pero el dispositivo puede volverse sensible a otras especies recubriendo el aislante de nitruro de silicio de la puerta con un polímero que contiene moléculas que tienden a formar complejos con especies diferentes del ion hidronio. Además, se pueden fabricar varios ISFET sobre el mismo sustrato de forma que puedan hacerse múltiples medidas simultáneamente. Para exaltar la exactitud y la fiabilidad todos los ISFET deben detectar las mismas especies, o cada ISFET debe recubrirse con un polímero diferente, de forma que puedan hacerse medidas de varias especies diferentes. Su pequeño tamaño (aproximadamente de 1 a 2 mm²), tiempo de respuesta rápido en relación a los electrodos de vidrio, y robustez sugieren que los ISFET pueden ser los detectores de iones del futuro para muchas aplicaciones.

Los ISFET ofrecen un cierto número de ventajas significativas sobre los electrodos de membrana, incluyendo robustez, pequeño tamaño, inercia frente a ambientes agresivos, respuesta rápida, y baja impedancia eléctrica. A diferencia de los electrodos de membrana, los ISFET no requieren la hidratación previa a su utilización y pueden almacenarse indefinidamente en estado seco. A pesar de estas numerosas ventajas, no apareció en el mercado ningún electrodo ISFET específico de iones hasta principios de los noventa, unos 20 años después de su invención. La razón de este retraso es que los fabricantes eran incapaces de desarrollar la tecnología adecuada para encapsular los dispositivos con el fin de crear un producto que no presentase deriva e inestabilidad.

A principios de los años noventa varias compañías se estrenaron con un ISFET para la determinación del pH. En el momento de escribir estas líneas, no ha sido posible obtener detalles de la capa superficial de estos electrodos que es la responsable de su comportamiento selectivo hacia los protones. Tampoco hay información que compare las prestaciones características de estos electrodos con las del electrodo de vidrio clásico. Desde luego, ellos presentan diversas ventajas enumeradas en el párrafo anterior. Precisamente, cuáles son sus desventajas, si las hay, es lo que no está claro en este momento. Sin embargo, parece probable que en el futuro irán apareciendo en el mercado ISFET que sean selectivos a iones diferentes del hidrógeno.

23E. ELECTRODOS SENSIBLES A MOLÉCULAS

Se han desarrollado dos tipos de sistemas de electrodos de membrana que actúan selectivamente sobre ciertos tipos de *moléculas*. Uno de estos se utiliza para la determinación de gases disueltos, tales como dióxido de carbono y amoníaco. El otro, cuya base son las membranas biocatalíticas, permite la determinación de una variedad de compuestos orgánicos, tales como glucosa y urea.

23E-1. Sondas sensibles a gases

Durante las últimas tres décadas, se han comercializado varios dispositivos electroquímicos sensibles a gases. En los textos de los fabricantes estos

dispositivos se denominan generalmente «electrodos» sensibles a gases. Como puede verse en la Figura 23-10, estos dispositivos no son, de hecho, electrodos sino que son celdas electroquímicas construidas con un electrodo específico de iones y uno de referencia sumergidos en una disolución interna, que está retenida por una delgada membrana permeable a gases. Por tanto, *sondas sensibles a gases* es un nombre más adecuado para estos sensores de gases. Las sondas sensibles a gases son dispositivos notablemente selectivos y sensibles para la determinación de gases disueltos o de iones que puedan convertirse en gases disueltos por ajuste del pH.

Diseño de las sondas de membrana

La Figura 23-10 es un esquema que muestra los detalles de una sonda sensible a gases para dióxido de carbono. El corazón de la sonda es una membrana delgada y porosa, que es fácilmente reemplazable. Esta membrana separa la disolución del analito de una disolución interna que contiene bicarbonato de sodio y cloruro de sodio. Un electrodo de vidrio sensible al pH, que tiene una membrana plana, se coloca en una determinada posición de manera que una delgada película de disolución interna quede entre él y la membrana permeable a los gases.

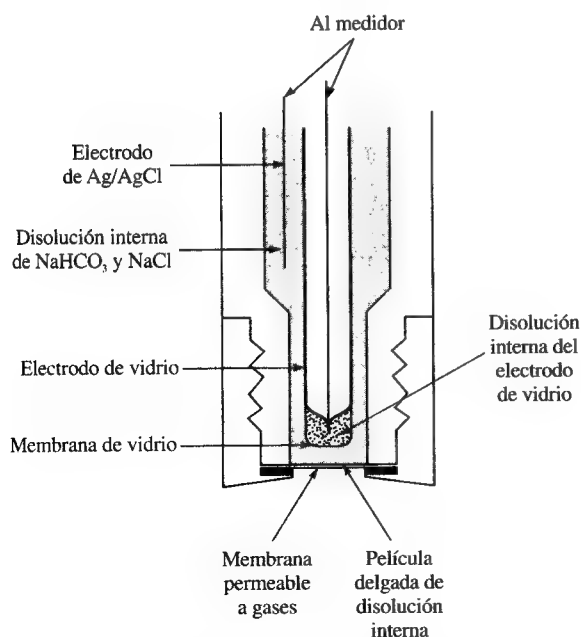


Figura 23-10. Esquema de una sonda sensible a gases para dióxido de carbono.

También se coloca en la disolución interna un electrodo de referencia de plata/cloruro de plata. El pH de la película de líquido adyacente al electrodo de vidrio es el que proporciona una medida del contenido de dióxido de carbono de la disolución del analito situada al otro lado de la membrana.

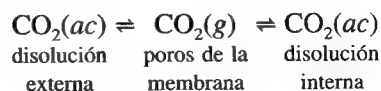
Membranas permeables a gases

Existen dos tipos de materiales de membrana, microporosos y homogéneos. Los materiales microporosos se fabrican con polímeros hidrófobos, tales como el politetrafluoretileno o el polipropileno, que tienen una porosidad (volumen vacío) de alrededor del 70 por 100 y un tamaño de poro de menos de 1 μm . Debido a las propiedades repelentes al agua de la película, las moléculas de agua y los iones del electrolito son expulsados de los poros; las moléculas gaseosas, en cambio, se mueven libremente dentro y fuera de los poros por *efusión* y por tanto a través de esta barrera. Normalmente, las membranas microporosas tienen alrededor de 0,1 mm de espesor.

Por el contrario, las películas homogéneas son sustancias poliméricas sólidas a través de las cuales el analito gaseoso pasa, disolviéndose en la membrana, difundiendo y redisolviéndose en la disolución interna. El material más utilizado para su construcción es la goma de silicona. Las películas homogéneas son generalmente más delgadas que las microporosas (de 0,01 a 0,03 mm) con el fin de acelerar la transferencia del gas y, por tanto, la velocidad de respuesta del sistema.

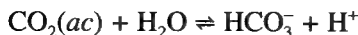
Mecanismo de respuesta

Cuando una disolución que contiene dióxido de carbono se pone en contacto con la membrana microporosa mostrada en la Figura 23-10, el gas *efunde* a través de la membrana, como se describe en las reacciones

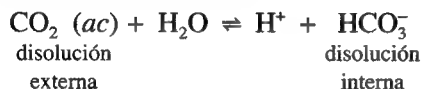


Debido a que los poros son numerosos y pequeños, el equilibrio se establece rápidamente (entre algunos segundos y algunos minutos) entre la disolución externa y la película delgada de disolución interna adyacente a la membrana. En la disolución interna, se establece otro equilibrio que hace que

cambie el pH de la película superficial interna; esto es



El electrodo de vidrio sumergido en la película de disolución interna detecta entonces el cambio de pH. La reacción global para el proceso que acabamos de describir viene dada por



por lo que se puede escribir

$$\frac{(a_{\text{H}^+})_{\text{int}} (a_{\text{HCO}_3^-})_{\text{int}}}{(a_{\text{CO}_2})_{\text{ext}}} = K$$

para una especie neutra como el CO_2 , $a_{\text{CO}_2} = [\text{CO}_2]$. Por tanto,

$$\frac{(a_{\text{H}^+})_{\text{int}} (a_{\text{HCO}_3^-})_{\text{int}}}{[\text{CO}_2]_{\text{ext}}} = K$$

Si se hace que la concentración de HCO_3^- en la disolución interna sea relativamente elevada, de manera que su actividad no se altere significativamente por el dióxido de carbono de la muestra, entonces

$$\frac{(a_{\text{H}^+})_{\text{int}}}{[\text{CO}_2]_{\text{ext}}} = \frac{K}{(a_{\text{HCO}_3^-})_{\text{int}}} = K_g \quad (23-18)$$

donde K_g es una nueva constante. Esta ecuación se puede reordenar para dar

$$(a_{\text{H}^+})_{\text{int}} = a_1 = K_g [\text{CO}_2]_{\text{ext}} \quad (23-19)$$

donde a_1 es la actividad de ion hidrógeno interna.

La sustitución de esta relación en la Ecuación 23-13 da el potencial del electrodo de vidrio como una función de la concentración de CO_2 en la disolución externa. Esto es,

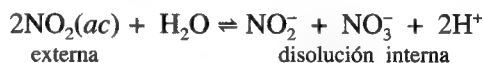
$$\begin{aligned} E_{\text{ind}} &= L + 0,0592 \log K_g [\text{CO}_2]_{\text{ext}} \\ &= L'' + 0,0592 \log [\text{CO}_2]_{\text{ext}} \end{aligned} \quad (23-20)$$

donde $L'' = L + 0,0592 \log K_g - E_{\text{ref}}$.

Por tanto, el potencial de la celda que consta de un electrodo de referencia interno y de un electro-

do indicador viene determinado por la concentración de CO_2 en la disolución externa. Obsérvese que *ningún electrodo está en contacto directo* con el analito. Nótese también que las únicas especies que interferirán en la medida son los gases disueltos que pueden pasar a través de la membrana y puedan, además, afectar al pH de la disolución interna.

Existe la posibilidad de aumentar la selectividad de las sondas sensibles a gases empleando un electrodo interno que sea sensible a especies diferentes del ion hidrógeno; por ejemplo, se puede utilizar un electrodo sensible al nitrato para obtener una celda que sea sensible al dióxido de nitrógeno. Aquí, el equilibrio sería



Este electrodo permite la determinación de NO_2 en presencia de gases tales como SO_2 , CO_2 y NH_3 , los cuales también alterarían el pH de la disolución interna.

La Tabla 23-5 muestra un listado de las sondas sensibles a gases más representativas que están disponibles comercialmente. También se encuentra en el mercado una celda sensible al oxígeno; sin embargo, se basa en una medida voltamperométrica y se tratará en el Capítulo 25.

23E-2. Electrodo de membrana biocatalítica

Desde alrededor de 1970, se ha dedicado un considerable esfuerzo a combinar la selectividad de las reacciones catalizadas por enzimas y los transductores electroquímicos para dar *biosensores* altamente selectivos para la determinación de compuestos de interés biológico y bioquímico¹⁵. En estos dispositivos la muestra se pone en contacto con una enzima inmovilizada donde el analito experimenta una reacción catalítica para dar especies tales como amoníaco, dióxido de carbono, iones hidrógeno, o peróxido de hidrógeno. La concentración de este producto, que es propor-

¹⁵ Para revisiones de biosensores, véase G. A. Rechnitz, *Science*, **1981**, 214, 287; G. A. Rechnitz, *Anal. Chem.*, **1982**, 54, 1194A; G. A. Rechnitz, *J. Chem. Educ.*, **1983**, 60, 282. Para un extenso tratamiento del tema, véase *Biosensors: Fundamentals and Applications*, A. P. F. Turner, I. Karube, y G. S. Wilson, Eds. New York: Oxford University Press, 1987.

El electrodo de la Figura 23-11a es un electrodo de vidrio que responde al ion amonio formado por la reacción mostrada en la parte superior de la Ecuación 23-21. El electrodo de la Figura 23-11b es una sonda de gas amoníaco que responde al amoniaco molecular en equilibrio con el ion amonio. Desafortunadamente, ambos electrodos tienen sus limitaciones. El electrodo de vidrio responde a todos los cationes monovalentes y sus coeficientes de selectividad para el NH_4^+ respecto a Na^+ o K^+ son tales que se producen interferencias en la mayoría de los medios biológicos de interés (tal como la sangre). La sonda de gas amoníaco sufre otras limitaciones diferentes, principalmente una incompatibilidad de pH entre la enzima y el sensor. Así, la enzima requiere un pH alrededor de 7 para una actividad catalítica máxima, pero la respuesta máxima del sensor tiene lugar a un pH mayor que de 8 a 9 (donde prácticamente todo el NH_4^+ se ha convertido en NH_3). Por tanto, la sensibilidad del electrodo es limitada. Ambas limitaciones se superan mediante la utilización de un sistema enzimático de lecho fijo donde se bombea la muestra, a un pH de aproximadamente 7, sobre la enzima. La solución resultante se hace entonces alcalina y el amoníaco liberado se determina con una sonda de gas amoniaco. En el mercado hay instrumentos automatizados desde hace varios años basados en esta técnica.

Hasta la fecha, a pesar de un considerable esfuerzo, no se encuentran disponibles electrodos enzimáticos comerciales basados en medidas de potencial, debido, al menos en parte, a limitaciones tales como las mencionadas en el párrafo anterior. Sin embargo, hay una casa comercial que oferta electrodos enzimáticos basados en medidas voltamperométricas. Estos electrodos se tratarán brevemente en el Capítulo 25.

23E-3. Sistemas multicapa de pIon desechables

Recientemente, han aparecido en el mercado, celdas electroquímicas desechables, basadas en electrodos de pIon. Estos sistemas, que han sido diseñados para la determinación de rutina de diversos iones en muestras clínicas, se describen brevemente en el Apartado 33 D-3 y se representan en la Figura 33-18.

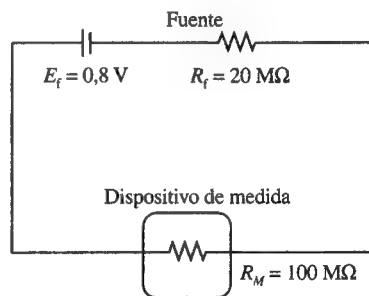
23F. INSTRUMENTOS PARA MEDIR LOS POTENCIALES DE CELDA

Una consideración fundamental en el diseño de un instrumento para medir potenciales de celda es que su resistencia debe ser grande con respecto a la celda. Si no lo es, se producirán errores significativos como consecuencia de la caída IR en la celda. Este efecto se demuestra en el ejemplo que sigue.

EJEMPLO 23-1

El potencial verdadero de un sistema de electrodo de vidrio/electrodo de calomelanos es de 0,800 V; su resistencia interna es 20 M Ω . ¿Cuál sería el error relativo en el potencial medido si el dispositivo de medida tuviese una resistencia de 100 M Ω ?

En este caso, se puede considerar que el circuito consiste en una fuente de potencial E_f y dos resistencias en serie, siendo R_f la de la fuente y R_M la del dispositivo de medida. Esto es,



A partir de la ley de Ohm, se puede escribir

$$E_f = IR_f + IR_M$$

donde I es la intensidad de corriente en este circuito que consta de la celda y del dispositivo de medida. La intensidad de corriente viene dada por

$$I = \frac{0,800 \text{ V}}{(20 + 100) \times 10^6 \Omega} = 6,67 \times 10^{-9} \text{ A}$$

La caída de potencial a través del dispositivo de medida (que es el potencial indicado por el dispositivo, E_i) es IR_M . Por tanto,

$$E_i = 6,67 \times 10^{-9} \times 100 \times 10^6 = 0,667 \text{ V}$$

y

$$\begin{aligned}\text{error rel} &= \frac{0,667 - 0,800}{0,800} \times 100 \% \\ &= \frac{-0,133}{0,800} \times 100 \% = -17 \%\end{aligned}$$

Se ve fácilmente que para reducir el error instrumental debido a la caída IR a un 1 por 100 relativo, la resistencia del dispositivo de medida de potencial debe ser alrededor de 100 veces mayor que la resistencia de la celda; para un error relativo del 0,1 por 100, la resistencia debe ser 1.000 veces mayor. Debido a que la resistencia eléctrica de las celdas que contienen electrodos selectivos de iones puede ser 100 M Ω o más, los dispositivos de medida de potencial utilizados con estos electrodos tienen, generalmente, una resistencia interna igual o superior a 10¹² Ω .

Es importante apreciar que un error en el potencial, tal como el que se muestra en el Ejemplo 23-1 (-0,133 V), tendría un efecto enorme en la exactitud de una medida de concentración basada en este potencial. Así, como se muestra en la página 664, una incertidumbre de 0,001 V en el potencial conduce a un error relativo de alrededor del 4 por 100 en la determinación de la concentración de ion hidrógeno de una disolución si se mide el potencial con un electrodo de vidrio. Un error como el hallado en el Ejemplo 23-1 daría lugar a una incertidumbre en la concentración de dos órdenes de magnitud o superior.

En potenciometría se han empleado dos tipos de instrumentos, el potenciómetro y el voltímetro electrónico de medida directa. Ambos instrumentos se conocen como *pH-metros* cuando sus resistencias internas son suficientemente elevadas para utilizarse con electrodos de vidrio y otras membranas; con el advenimiento de los numerosos electrodos específicos de iones recientes, son quizás más descriptivos los nombres de *medidores de plon* o *de iones*. Los modernos medidores de iones son generalmente del tipo de lectura directa; por tanto, son los únicos que se describirán aquí.

23F-1. Instrumentos de lectura directa

Numerosos pH-metros de lectura directa están disponibles comercialmente. Generalmente, son dispositivos de estado sólido que emplean un transis-

tor de efecto de campo o un seguidor de potencial como primera etapa de amplificación con el fin de proporcionar la elevada resistencia interna necesaria. La Figura 23-12 representa el esquema de un medidor de plon que opera con baterías, que puede construirse por aproximadamente 50 dólares (sin incluir los electrodos). En este caso, la salida del electrodo de iones está conectada a un transistor de efecto de campo de elevada resistencia. La salida del amplificador operacional se visualiza en un medidor que tiene una escala que va desde -100 a 100 μ A. Estos límites corresponden a un intervalo de pH de 1 a 14.

23F-2. Instrumentos comerciales

Se dispone de una amplia variedad de medidores de iones ofertados por diversos fabricantes de instrumentos. Por ejemplo, una publicación de 1975¹⁶ daba un listado de alrededor de un centenar de modelos ofertados por más de 20 compañías. Aunque la información de este artículo está ahora anticuada, proporciona una imagen realista de los tipos y número de medidores de plon que están actualmente disponibles para los científicos. Se han descrito cuatro categorías de medidores basadas en el precio e interés. Estas incluyen los medidores *utilitarios*, que son instrumentos portátiles, que funcionan generalmente con baterías cuyo precio oscila actualmente entre menos de 100 dólares a algo más de 500 dólares. Generalmente, en los medidores utilitarios se puede apreciar hasta 0,1 unidades de pH o incluso menos. Los medidores de *uso general* son instrumentos que operan conectados a la red, en los que se puede apreciar hasta 0,05 unidades de pH o incluso menos. Algunos ofrecen características tales como lectura digital, compensación automática de temperatura, y expansión de escala de forma que la escala completa cubre 1,4 unidades en lugar de 0 a 14 unidades, y una escala en milivoltios. Actualmente, los precios de los medidores de uso general oscilan entre los 300 y los 900 dólares. Los instrumentos de *escala expandida* en los que se puede apreciar hasta 0,01 unidades de pH o incluso menos, y cuestan desde alrededor de 700 hasta 1.500 dólares. La mayoría ofrecen intervalos de escala completa desde 0,5 a 2 unidades de pH (así como de 0 a 7 y de 0 a 14), lecturas de cuatro dígitos, control manual, escala en milivoltios y com-

¹⁶ J. A. Hauber y C. R. Dayton, *Amer. Lab.*, 1975, 7 (4), 73.

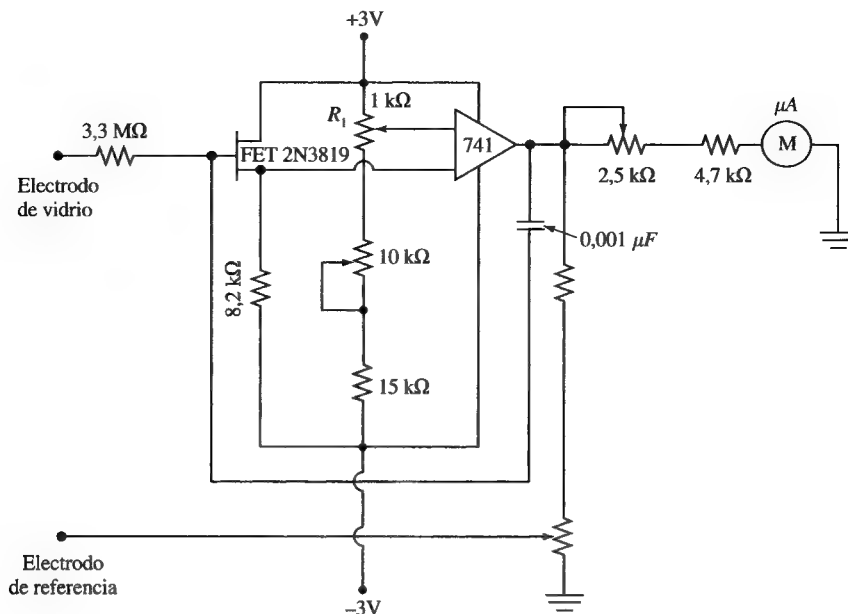


Figura 23-12. Medidor de pñon sencillo basado en un transistor de efecto de campo y un amplificador operacional. (De D. Sievers, J. Chem. Educ., 1981, 58, 281. Con permiso.)

pensación automática de la temperatura. Los medidores de *investigación* en los que se puede apreciar hasta 0,001 unidades de pH o incluso menos, generalmente poseen una pantalla con 5 dígitos, y cuestan ente 1.500 y 2.200 dólares. Debería señalarse que la fiabilidad de estos instrumentos es en general significativamente mejor que la sensibilidad de la mayoría de los electrodos selectivos de iones.

23G. MEDIDAS POTENCIOMÉTRICAS DIRECTAS

La determinación de un ion o de una molécula mediante medida potenciométrica directa es rápida y sencilla, requiriendo sólo la comparación del potencial desarrollado por el electrodo indicador en la disolución problema con el potencial obtenido cuando se sumerge en una o más disoluciones patrón del analito. Debido a que la mayoría de los electrodos indicadores son selectivos, normalmente no se requieren etapas de separación previas. Además, las medidas potenciométricas directas son rápidas y se adaptan fácilmente al control automático y continuo de las actividades de los iones.

23G-1. Convenio de signos y ecuaciones para la potenciometría directa

El convenio de signos en potenciometría está de acuerdo con el convenio descrito en el Capítulo 22 para el potencial estándar de electrodo¹⁷. En este convenio, el electrodo indicador se considera que es el *cátodo* y el electrodo de referencia el *ánodo*¹⁸. Para las medidas potenciométricas directas, el potencial de la celda puede expresarse como una suma del potencial del electrodo indicador, del potencial del electrodo de referencia, y del potencial de unión:

$$E_{\text{celda}} = E_{\text{ind}} - E_{\text{ref}} + E_j \quad (23-22)$$

¹⁷ De acuerdo con Bates, el convenio que se describe aquí ha sido aprobado por grupos de estandarización de los Estados Unidos y de Gran Bretaña al igual que por la IUPAC. Véase R. G. Bates, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.^a ed., I. M. Kolthoff y P. J. Elving, Eds., Parte I, Vol. 1, págs. 831-832. New York: Wiley, 1978.

¹⁸ En efecto, el convenio de signos para los potenciales de electrodo descrito en el Apartado 22C-5 también designa como cátodo al electrodo indicador, al establecer que las semirreacciones se escriban siempre como reducciones; el electrodo estándar de hidrógeno, que en este caso es el electrodo de referencia, es entonces el ánodo.

En los Apartados 23B y 23C, se describe la respuesta de varios tipos de electrodos indicadores a las actividades de los analitos. Para el catión X^{n+} a 25 °C, la respuesta del electrodo toma la forma *nerstiana* general.

$$E_{\text{ind}} = L - \frac{0,0592}{n} \log \frac{1}{[a_x]}$$

$$= L - \frac{0,0592}{n} \text{pX} \quad (23-23)$$

donde L es una constante y a_x es la actividad del catión. Para los electrodos indicadores metálicos, L es normalmente el potencial del electrodo estándar (véase Ecuación 23-1); para los electrodos de membrana, L es la suma de varias constantes, incluyendo el potencial de asimetría dependiente del tiempo, de magnitud indeterminada (véase Ecuación 23-14).

La sustitución de la Ecuación 23-23 en la Ecuación 23-22, da, después de reordenar

$$\text{pX} = -\log a_x = -\frac{E_{\text{celda}} - (E_j - E_{\text{ref}} + L)}{0,0592/n}$$

Los términos constantes entre paréntesis pueden combinarse para dar una nueva constante K :

$$\text{pX} = -\log a_x = -\frac{E_{\text{celda}} - K}{0,0592/n} \quad (23-24)$$

donde

$$K = E_j - E_{\text{ref}} + L \quad (23-25)$$

Para un anión A^{n-} , se invierte el signo de la Ecuación 23-24

$$\text{pA} = -\frac{E_{\text{celda}} - K}{0,0592/n} \quad (23-26)$$

Todos los métodos potenciométricos directos se basan en las Ecuaciones 23-24 o en la 23-26. La diferencia de signo en las dos ecuaciones tiene una sutil pero importante consecuencia en la forma en que los electrodos selectivos de iones se conectan a pH-metros y a los medidores de pIón. Cuando se resuelven las dos ecuaciones para E_{celda} , se encuentra que para los cationes

$$E_{\text{celda}} = K - \frac{0,0592}{n} \text{pX} \quad (23-27)$$

y para los aniones

$$E_{\text{celda}} = K + \frac{0,0592}{n} \text{pA} \quad (23-28)$$

La Ecuación 23-27 muestra que un aumento en pX da lugar a una *disminución* en E_{celda} con un electrodo selectivo de cationes. Así, cuando se conecta un voltímetro de elevada resistencia a la celda de la manera usual, con el electrodo indicador unido a la terminal positiva, la lectura del medidor disminuye a medida que el pX aumenta. Para eliminar este problema, los fabricantes de instrumentación generalmente invierten las conexiones de forma que los electrodos sensibles a cationes se conecten a la terminal *negativa* del dispositivo medidor del potencial. Entonces las lecturas en el medidor aumentan con el incremento de pX. Los electrodos selectivos de aniones, por otro lado, se conectan a la terminal *positiva* del medidor de forma que los aumentos en pA también den lecturas mayores.

23G-2. Método de calibración del electrodo

La constante K de las Ecuaciones 23-27 y 23-28 está formada por varias constantes, al menos una de las cuales, el potencial de unión, no puede calcularse a partir de la teoría ni medirse directamente. Por tanto, antes de que puedan utilizarse estas ecuaciones para la determinación del pX o del pA, debe evaluarse K *experimentalmente* con una o más disoluciones patrón del analito.

En el método de calibración del electrodo, K se determina midiendo E_{celda} para una o más disoluciones patrón de pX o pA conocidas. La suposición que se hace entonces es que K no cambia cuando el patrón se sustituye por el analito. La calibración se realiza generalmente en el momento en que se va a determinar pX o pA de la muestra. Con electrodos de membrana puede ser necesaria la recalibración si las medidas se efectúan durante varias horas debido al lento cambio del potencial de asimetría.

El método de calibración directa ofrece las ventajas de sencillez, rapidez, y su posible aplicación a sistemas de control de pX o pA continuos, sin embargo, su utilización viene acompañada de

dos importantes desventajas. Una de ellas es que la exactitud de una medida obtenida por este procedimiento está limitada por una incertidumbre inherente causada por el potencial de unión E_j ; desafortunadamente, esta incertidumbre no se puede eliminar nunca totalmente. La segunda desventaja de este procedimiento es que los resultados de un análisis se dan en términos de actividades en vez de concentraciones (para algunas aplicaciones esto es una ventaja más que un inconveniente).

Error inherente al procedimiento de calibración del electrodo

Una seria desventaja del método de calibración de un electrodo es la existencia de una incertidumbre inherente que resulta de suponer que K en la Ecuación 23-24 o 23-26 permanece constante durante la calibración y la determinación del analito. Esta suposición rara vez, si alguna, puede ser exactamente cierta debido a que la composición electrolítica de la muestra inevitablemente casi siempre diferirá de la de la disolución empleada para la calibración. Como consecuencia el potencial de unión E_j contenido en K (Ecuación 23-25) variará ligeramente, aunque se utilice un puente salino. Esta incertidumbre será con frecuencia del orden de 1 mV o más; desafortunadamente, debido a la naturaleza de la relación potencial/actividad, una tal incertidumbre, tiene un efecto amplificado en la exactitud inherente al análisis. El grado de incertidumbre en la concentración del analito se puede estimar derivando la Ecuación 23-24 con respecto a K mientras E_{celda} se mantiene constante:

$$-\log_{10} e \frac{da_x}{a_x} = -0,434 \frac{da_x}{a_x} = -\frac{dK}{0,0592/n}$$

$$\frac{da_x}{a_x} = \frac{ndK}{0,0256}$$

De la sustitución de da_x y dK por incrementos finitos y multiplicando ambos lados de la ecuación por 100, se obtiene

$$\% \text{ error rel} = \frac{\Delta a_x}{a_x} \times 100 \% = 3,9 \times 10^3 n \Delta K \% \quad (23-29)$$

La cantidad $\Delta a_x/a_x$ es el error relativo en a_x asociado con un error absoluto ΔK en K . Si, por ejemplo, ΔK es $\pm 0,001$ V, se puede esperar un error re-

lativo de alrededor de $\pm 4n$ por 100 en la actividad. *Es importante apreciar que esta incertidumbre es característica de todas las medidas que utilicen celdas que contengan un puente salino y que esta incertidumbre no puede eliminarse ni con las medidas más cuidadosas de los potenciales de celda ni con los dispositivos de medida más sensibles y precisos; tampoco parece posible idear un método para eliminar completamente la incertidumbre en K que es el origen del problema.*

Actividad frente a concentración

La respuesta del electrodo está relacionada con la actividad en vez de con la concentración del analito. Sin embargo, el científico normalmente está interesado en la concentración, y la determinación de esta cantidad a partir de medidas potenciométricas requiere los datos de los coeficientes de actividad. Normalmente, no se puede llegar a conocer los coeficientes de actividad debido a que la fuerza iónica de la disolución o es desconocida o es tan elevada que no es aplicable la ecuación de Debye-Hückel. Desafortunadamente, el suponer que la actividad y la concentración son idénticas puede conducir a serios errores, particularmente cuando el analito es polivalente.

La diferencia entre la actividad y la concentración se ilustra en la Figura 23-13, donde la curva inferior representa la variación en el potencial de un electrodo de calcio en función de la concentración de cloruro de calcio (obsérvese que la escala de actividad o concentración es logarítmica). La no

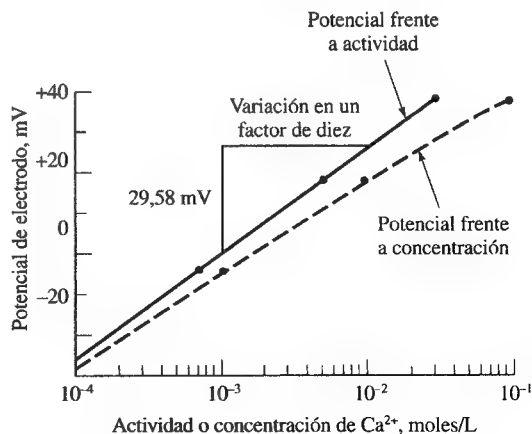


Figura 23-13. Respuesta de un electrodo de ion calcio a las variaciones en la concentración y actividad del ion calcio de disoluciones preparadas a partir de cloruro de calcio puro. (Cortesía de Orion Research, Inc., Cambridge, MA.)

linealidad de la curva se debe al aumento en la fuerza iónica, y la consecuente disminución del coeficiente de actividad del calcio, a medida que se hace mayor la concentración del electrólito. Cuando estas concentraciones se convierten en actividades, se obtiene la curva superior; obsérvese que esta línea recta tiene la pendiente nernstiana de 0,0296 (0,0592/2).

A los coeficientes de actividad de iones monovalentes les afectan menos los cambios en la fuerza iónica que a los coeficientes de las especies con cargas múltiples. Así, el efecto mostrado en la Figura 23-13 será menos pronunciado para electrodos que responden al H^+ , Na^+ y a otros iones monovalentes.

En las medidas potenciométricas, el pH de la disolución tampón patrón empleado para la calibración se basa generalmente en la actividad de los iones hidrógeno. Así, los resultados obtenidos para el ion hidrógeno vendrán también en una escala de actividad. Si la muestra desconocida tiene una elevada fuerza iónica, la *concentración* de ion hidrógeno diferirá apreciablemente de la actividad medida.

23G-3. Curvas de calibración para las medidas de la concentración

Una manera obvia de corregir las medidas potenciométricas para dar resultados en términos de concentración es haciendo uso de una curva de calibración empírica tal como la curva inferior de la Figura 23-13. Sin embargo, para que este enfoque tenga éxito, es esencial que la composición iónica de los estándares se aproxime mucho a la del analito, una condición que es difícil de llevar a cabo experimentalmente con muestras complejas.

Cuando las concentraciones del electrólito no sean demasiado grandes, generalmente, es útil saturar tanto las muestras como los patrones de calibración con un exceso medido de un electrólito inerte. En estas circunstancias, el efecto adicional del electrólito de la muestra se hace despreciable, y la curva de calibración empírica proporciona resultados en términos de concentración. Este enfoque se ha empleado para la determinación potenciométrica de fluoruro en abastecimientos de agua potable con un electrodo de fluoruro de lantano. En este caso, tanto las muestras como los patrones se diluyen en una proporción 1:1 con una disolución que contiene cloruro de sodio, un tampón de citrato, y

un tampón de acetato (esta mezcla, que fija tanto la fuerza iónica como el pH, se vende con el nombre de «Tampón para ajustar la fuerza iónica total» o TISAB); el diluyente está suficientemente concentrado como para que las muestras y los patrones no difieran significativamente en fuerza iónica. El procedimiento permite una medida rápida del ion fluoruro en una concentración del orden de 1 ppm, con una precisión relativa de alrededor del 5 por 100.

La curvas de calibración son útiles también para electrodos que no responden linealmente al pA.

23G-4. Método de la adición estándar

El método de la adición estándar, descrito en el Apartado 1E-2, es igualmente aplicable a las determinaciones potenciométricas. En este caso, el potencial del sistema electródico se mide antes y después de la adición de un pequeño volumen (o volúmenes) de un patrón a un volumen conocido de la muestra. Se hace la suposición que esta adición no altera la fuerza iónica y por tanto el coeficiente de actividad γ_x del analito. Además, se supone que el patrón añadido no altera significativamente el potencial de unión.

El método de la adición estándar se ha aplicado a la determinación de cloruro y fluoruro en muestras de escintiladores comerciales¹⁹. En esta aplicación se utilizaron electrodos indicadores de estado sólido para cloruro y fluoruro junto con un electrodo de referencia; el patrón añadido contenía cantidades conocidas de los dos aniones. La desviación estándar relativa de las medidas de varios replicados resultó ser del 0,7 por 100 para el fluoruro y del 0,4 por 100 para el cloruro. Cuando no se utilizó el método de la adición estándar, los errores relativos de los análisis oscilaban entre el 1 y el 2 por 100.

23G-5. Medidas potenciométricas de pH con el electrodo de vidrio²⁰

El electrodo de vidrio es indiscutiblemente el electrodo indicador más importante para el ion hidrógeno. Su uso es adecuado y está sujeto a pocas de las interferencias que afectan a otros electrodos sen-

¹⁹ L. G. Bruton, *Anal. Chem.*, **1971**, 43, 579.

²⁰ Para una discusión detallada de las medidas potenciométricas de pH, véase R. G. Bates, *Determination of pH: Theory and Practice*, 2.^a ed. New York: Wiley, 1973.

sibles al pH. Los electrodos de vidrio están disponibles a un coste relativamente bajo y se ofrecen en muchas formas y tamaños. En la Figura 23-3 se ilustra un modelo corriente; el electrodo de referencia es generalmente un electrodo de plata/cloruro de plata.

El electrodo de vidrio es una herramienta notablemente versátil para la medida de pH en muy diversas condiciones. El electrodo se puede utilizar sin interferencias en disoluciones que contienen oxidantes fuertes, reductores, gases y proteínas (en presencia de proteínas se utiliza, normalmente, un electrodo de referencia de calomelanos en vez de un electrodo de referencia de plata/cloruro de plata porque los iones plata reaccionan con las proteínas); se puede determinar el pH de fluidos viscosos o incluso semisólidos. Se puede disponer de electrodos para aplicaciones especiales. Entre estos se encuentran pequeños electrodos para medidas de pH en una gota (o menos) de disolución o en una cavidad de un diente, microelectrodos que permiten la medida del pH dentro de una célula viva, sistemas para su inserción en una corriente de un líquido que fluye para obtener el control continuo del pH, un pequeño electrodo que puede tragarse para indicar la acidez del contenido del estómago (el electrodo de referencia se mantiene en la boca), y electrodos combinados que contienen tanto el electrodo indicador como el de referencia en una sonda única.

Resumen de los errores que afectan a las medidas de pH con el electrodo de vidrio

La omnipresencia del pH-metro y la aplicabilidad general del electrodo de vidrio tienden a hacer creer al químico que cualquier medida obtenida con tal instrumento es necesariamente correcta. Es conveniente ser precavidos frente a esta falsa sensación de seguridad debido a que este sistema electrodo tiene claras limitaciones. Éstas se han discutido en las secciones precedentes y son las siguientes:

1. **Error alcalino.** Los electrodos de vidrio modernos son algo sensibles a iones de metales alcalinos para valores de pH superiores a 11 o 12.
2. **Error ácido.** A un pH menor de 0,5, los valores obtenidos con un electrodo de vidrio tienden a ser algo elevados.
3. **Deshidratación.** La deshidratación del electrodo puede dar lugar a un funcionamiento inestable y a errores.

4. **Errores en las disoluciones con fuerzas iónicas bajas.** Se ha encontrado que pueden presentarse errores significativos (tanto como 1 o 2 unidades de pH) cuando se mide el pH de muestras con baja fuerza iónica, tales como muestras de lagos o arroyos, con un sistema electrodo de vidrio/electrodo de calomelanos²¹. Se ha comprobado que la fuente principal de tales errores son los potenciales de unión no reproducibles, que aparentemente resultan de una obturación parcial del tapón fritado o de la fibra porosa que se utiliza para restringir el flujo de líquido desde el puente salino a la disolución del analito. Con el objeto de superar este problema, se han diseñado uniones de difusión libre (FDJ) de diversos tipos, y una se comercializa. En esta, se adiciona una disolución de electrólito con una jeringa a través de un tubo capilar, la punta del cual está en contacto con la disolución de la muestra (véase Fig. 23-14). Antes de cada medida, se introducen 6 μ L de electrólito con lo que una porción fresca de electrólito está en contacto con la disolución del analito.

5. **Variación en el potencial de unión.** Es necesario volver a resaltar que la variación del potencial de unión entre el patrón y la muestra conlleva una inexactitud fundamental en la medida del pH a la que no puede aplicarse ninguna corrección. Generalmente no se pueden obtener valores absolutos exactos más allá de 0,01 unidades de pH. Incluso una exactitud de hasta 0,03 unidades de pH requiere un cuidado considerable. Por otro lado, a menudo es posible detectar *diferencias* de pH entre disoluciones similares o *cambios* de pH en una misma disolución del orden de 0,001 unidades. Por esta razón, muchos pH-metros están diseñados para permitir lecturas de menos de 0,01 unidades de pH.

6. **Error en el pH del tampón patrón.** Cualquier inexactitud en la preparación de la disolución tampón utilizado para la calibración, o cambios en su composición durante el almacenamiento, se propagarán como errores en las medidas del pH. Una causa frecuente del deterioro es la acción de las bacterias sobre los

²¹ Véase W. Davison y C. Woof, *Anal. Chem.*, **1985**, 57, 2567; T. R. Harbinson y W. Davison, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 2450; A. Kopelove, S. Franklin, y G. M. Miller, *Amer. Lab.*, **1989**, (6), 40.

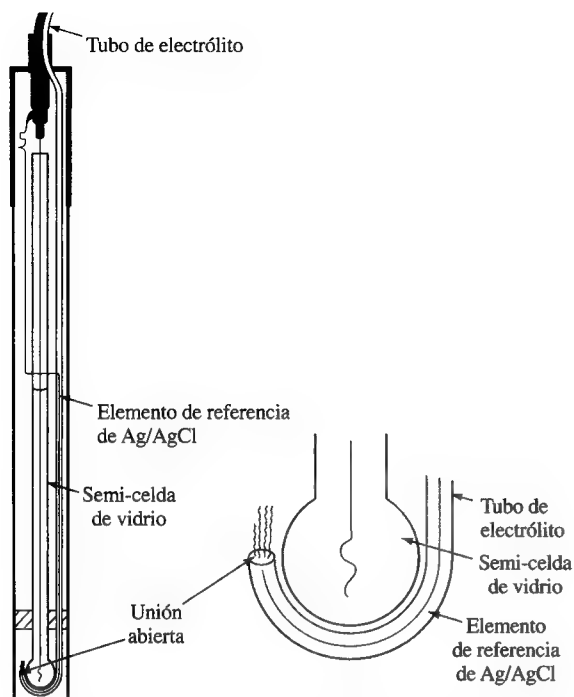


Figura 23-14. Sistema de electrodo de pH combinado con una unión de difusión libre. (Cortesía de Hach Company, Loveland, CO. Con permiso.)

componentes orgánicos de las disoluciones tampón.

Definición operacional de pH

La utilidad del pH como una medida de la acidez o alcalinidad de los medios acuosos, la amplia disponibilidad comercial de electrodos de vidrio, y la proliferación relativamente reciente de pH-metros de estado sólido económicos, ha hecho de las medidas potenciométricas del pH una de las técnicas analíticas más usuales en toda la ciencia. Es por tanto extremadamente importante que el pH se defina de una manera que sea fácilmente reproducible en diversos momentos y por varios laboratorios en todo el mundo. Para cumplir este requisito, es necesario definir el pH en términos operacionales, esto es, por la manera en que se lleva a cabo la medida. Sólo entonces el pH medido por un operario será el mismo que el medido por otro.

La definición operacional de pH aprobada por el Instituto Nacional de Patrones y Tecnología (NIST), por organizaciones similares de otros países y por la IUPAC se basa en la calibración directa del aparato medidor con disoluciones tampón pa-

trones cuidadosamente establecidas seguida de la determinación potenciométrica del pH de las disoluciones desconocidas.

Considérese, por ejemplo, el sistema vidrio/calomelanos de la Figura 23-3. Cuando estos electrodos se sumergen en una disolución tampón patrón a 25 °C, es aplicable la Ecuación 23-24 y se puede escribir

$$\text{pH}_P = -\frac{E_P - K}{0,0592}$$

donde E_P es el potencial de la celda cuando los electrodos se sumergen en la disolución tampón patrón. De manera similar, si el potencial de celda es E_U cuando los electrodos se sumergen en una disolución de pH desconocido también a 25 °C, se tiene

$$\text{pH}_U = -\frac{E_U - K}{0,0592}$$

Restando la primera ecuación de la segunda y resolviéndola para pH_U , se obtiene

$$\text{pH}_U = \text{pH}_P - \frac{(E_U - E_P)}{0,0592} \quad (23-30)$$

La ecuación 23-30 se ha adoptado en todo el mundo como la *definición operacional de pH*²².

Los trabajadores del Instituto Nacional de Patrones y Tecnología y los de otros centros han utilizado celdas sin uniones líquidas para estudiar extensamente las disoluciones tampón patrones primarios. Algunas de las propiedades de estas disoluciones tampón se muestran en la Tabla 23-6 y se discuten en detalle en otra parte²³. Para uso general, los tampones se pueden preparar a partir de reactivos de laboratorio económicos. Para trabajos cuidadosos, pueden adquirirse disoluciones tampón certificadas por el NIST.

²² La Ecuación 23-30 se aplica sólo a disoluciones a 25 °C. Una ecuación más general es

$$\text{pH}_U = \text{pH}_P - \frac{(E_U - E_P)F}{2,303 RT} = \text{pH}_P - \frac{(E_U - E_P)}{1,984 \times 10^{-4} T}$$

donde T es la temperatura de la muestra y de la disolución tampón patrón y pH_P es el pH del patrón a la temperatura T .

²³ R. G. Bates, *Determination of pH*, 2.^a ed., Capítulo 4. New York: Wiley, 1973.

TABLA 23-6. Valores del pH de disoluciones patrones primarios del NIST de 0° a 60 °C^a

Temperatura, °C	Sat (25 °C) KH Tartrato	0,05 m KH ₂ Citrato ^b	0,05 m KHftalato	0,025 m KH ₂ PO ₄ / 0,025 m Na ₂ HPO ₄	0,008695 m KH ₂ PO ₄ / 0,03043 m Na ₂ HPO ₄	0,01 m Na ₄ B ₄ O ₇	0,025 m NaHCO ₃ / 0,025 m Na ₂ CO ₃
0	—	3,863	4,003	6,984	7,534	9,464	10,317
5	—	3,840	3,999	6,951	7,500	9,395	10,245
10	—	3,820	3,998	6,923	7,472	9,332	10,179
15	—	3,802	3,999	6,900	7,448	9,276	10,118
20	—	3,788	4,002	6,881	7,429	9,225	10,062
25	3,557	3,776	4,008	6,865	7,413	9,180	10,012
30	3,552	3,766	4,015	6,853	7,400	9,139	9,966
35	3,549	3,759	4,024	6,844	7,389	9,102	9,925
40	3,547	3,753	4,035	6,838	7,380	9,068	9,889
45	3,547	3,750	4,047	6,834	7,373	9,038	9,856
50	3,549	3,749	4,060	6,833	7,367	9,011	9,828
55	3,554	—	4,075	6,834	—	8,985	—
60	3,560	—	4,091	6,836	—	8,962	—
Capacidad tampón ^c (mol/unidad de pH)	0,027	0,034	0,016	0,029	0,016	0,020	0,029
ΔpH1/2 para dilución 1:1 ^d	0,049	0,024	0,052	0,080	0,07	0,01	0,079

^a Adaptado de R. G. Bates, *Determination of pH*, 2.^a ed., pág. 73. New York: Wiley, 1973.^b m = molalidad (moles de soluto/kg H₂O).^c La capacidad tampón es el número de moles, de un ácido monoprótico fuerte o de base que provoca un cambio de pH de 1,0 unidades en 1,0 L.^d Cambio de pH que tiene lugar cuando un volumen de una disolución tampón se diluye con un volumen de H₂O.

23H. VALORACIONES POTENCIOMÉTRICAS

El potencial de un electrodo indicador adecuado se emplea con comodidad para establecer el punto de equivalencia de una valoración (*una valoración potenciométrica*)²⁴. Una valoración potenciométrica proporciona una información diferente que la de una medida potenciométrica directa. Por ejemplo, la medida directa de disoluciones de ácido acético 0,100 M y ácido clorhídrico 0,100 M con un electrodo sensible al pH da valores de pH bastantes diferentes debido a que el primero sólo está parcialmente disociado. Por otro lado, las valoraciones potenciométricas de volúmenes iguales de los dos

ácidos requieren la misma cantidad de base patrón para su neutralización.

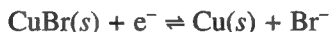
El punto final potenciométrico es ampliamente aplicable y proporciona datos inherentemente más exactos que el método correspondiente que utiliza indicadores. Es particularmente útil para la valoración de disoluciones coloreadas o turbias y para detectar la presencia de especies insospechadas en una disolución. Desafortunadamente, emplea más tiempo que una valoración que utilice un indicador a no ser que se utilice un valorador automático. No se discutirán aquí los detalles de las técnicas de valoración potenciométrica, ya que la mayoría de los textos elementales de análisis tratan este tema ampliamente²⁵.

²⁴ Para una monografía de este método, véase E. R. Sergeant, *Potentiometry and Potentiometric Titrations*. New York: Wiley, 1984.

²⁵ Por ejemplo, véase D. A. Skoog, D. M. West, y F. J. Holler, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 7.^a ed., Capítulo 19. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1996.

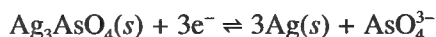
23I. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 23-1. Hacer un listado de las ventajas e inconvenientes de una valoración potenciométrica respecto a una valoración con indicadores visuales.
- 23-2. ¿Cuál es la causa del error alcalino en la medida del pH con un electrodo de vidrio?
- 23-3. Compare los coeficientes de temperatura medios en el intervalo de 15 a 35 °C de los cinco electrodos de referencia que aparecen en la Tabla 23-1.
- 23-4. ¿Qué ocurre en la punta sensible al pH de un electrodo de vidrio recién fabricado cuando se sumerge en agua?
- 23-5. Diferenciar entre un electrodo de segunda clase y un electrodo de tercera clase.
- 23-6. Una disolución de metilamina se valora con HCl utilizando un sistema de electrodo de vidrio/electrodo de calomelanos. Demostrar cómo se puede obtener K_b a partir del pH en el punto de semineutralización.
- 23-7. ¿Cuál es la causa de
 (a) el potencial de superficie en un electrodo de membrana?
 (b) el potencial de unión en un sistema electrodo de vidrio/electrodo de calomelanos?
 (c) el potencial de un electrodo de membrana cristalina utilizado para determinar la concentración de F^- ?
- 23-8. Calcular el potencial teórico de las siguientes celdas. (Supóngase en cada uno de los casos que las actividades son aproximadamente iguales a las concentraciones molares y que la temperatura es 25 °C.)
 (a) $ECS \parallel Fe^{3+}(0,0150\text{ M}), Fe^{2+}(0,0222\text{ M}) \mid Pt.$
 (b) $ECS \parallel Zn^{2+}(0,00165\text{ M}) \mid Zn.$
 (c) Electrodo de referencia $Ag/AgCl$ saturado $\parallel Ti^{3+}(0,0110\text{ M}), Ti^{2+}(0,0350\text{ M}) \mid Pt.$
 (d) Electrodo de referencia $Ag/AgCl$ saturado $\parallel I_3^-(0,00562\text{ M}), I^-(0,00313) \mid Pt.$
- 23-9. (a) Calcular el potencial estándar de la reacción



Para el $CuBr$, $K_{ps} = 5,2 \times 10^{-9}$.

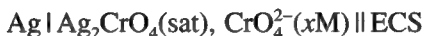
- (b) Hacer un esquema de una celda que tenga un electrodo indicador de cobre como ánodo y un electrodo de calomelanos saturado como cátodo y que pueda utilizarse para la determinación de Br^- .
- (c) Deducir una ecuación que relacione el potencial medido en la celda del apartado (b) con el pBr (suponer que el potencial de unión es cero).
- (d) Calcular el pBr de una disolución que contiene bromuro, que se satura con $CuBr$ y está contenida en la celda descrita en el apartado (b) si el potencial resultante es $-0,071\text{ V}$.
- 23-10. (a) Calcular el potencial estándar para la reacción



Para el Ag_3AsO_4 , $K_{ps} = 1,2 \times 10^{-22}$.

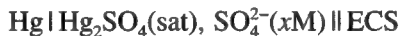
- (b) Hacer un esquema de una celda con un electrodo indicador de plata como cátodo y un electrodo de calomelanos saturado como ánodo y que pueda utilizarse para la determinación de AsO_4^{3-} .
- (c) Deducir una ecuación que relacione el potencial medido en la celda del apartado (b) con el pAsO_4 (suponer que el potencial de unión es cero).
- (d) Calcular el pAsO_4 de una disolución que está saturada con Ag_3AsO_4 y está contenida en la celda descrita en el apartado (b) si el potencial resultante es 0,312 V.

23-11. La siguiente celda se empleó para la determinación del pCrO_4 :



Calcular el pCrO_4 si el potencial de la celda es $-0,402$ V.

23-12. La siguiente celda se empleó para la determinación del pSO_4 de una disolución:

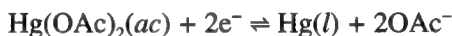


Calcular el pSO_4 si el potencial fue $-0,577$ V.

23-13. La constante de formación del complejo de acetato de mercurio(II) es



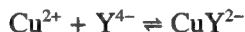
Calcular el potencial estándar para la reacción



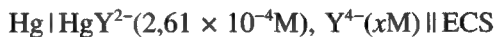
23-14. El potencial estándar de electrodo para la reducción del complejo del EDTA con el $\text{Cu}(\text{II})$ viene dado por



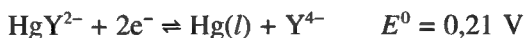
Calcular la constante de formación para la reacción



23-15. Calcular el potencial de la celda (despreciando el potencial de unión)



donde Y^{4-} es un anión del EDTA, y la concentración de Y^{4-} es (a) $1,21 \times 10^{-1}$ M, (b) $1,21 \times 10^{-3}$ M, y (c) $1,21 \times 10^{-5}$ M.

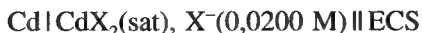


23-16. Se ha encontrado que la siguiente celda tiene un potencial de 0,124 V:



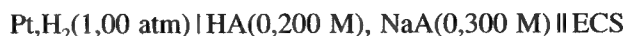
Cuando se reemplazó la disolución de actividad conocida de cobre por una disolución desconocida, se encontró que el potencial era 0,105 V. ¿Cuál es el pCu de esta disolución desconocida? Desprecie el potencial de unión.

23-17. Se ha encontrado que la siguiente celda tiene un potencial de 1,020 V:



Calcular el producto de solubilidad del CdX_2 , despreciando el potencial de unión.

23-18. Se ha encontrado que la siguiente celda tiene un potencial de 0,515 V:



Calcular la constante de disociación del HA, despreciando el potencial de unión.

23-19. Una alícuota de 40,00 mL de HNO_3 0,0500 M se diluye hasta 75,0 mL y se valora con Ce^{4+} 0,0800 M. Suponer que la concentración de ion hidrógeno es 1,00 M a lo largo de la valoración. (Utilícese 1,44 V para el potencial formal del sistema del cerio.)

- Calcular el potencial del cátodo indicador con respecto a un electrodo de referencia de calomelanos saturado después de la adición de 10,0; 25,00; 40,00; 49,00; 49,9; 50,1; 51,00; 55,00 y 60,00 mL de Cerio(IV).
- Dibujar la curva de valoración con estos datos.

23-20. Se encontró que un sistema electrodo de vidrio/electrodo de calomelanos desarrollaba un potencial de -0,0412 V cuando se utilizó con una disolución tampón de pH 6,00; con una disolución problema se observó que el potencial era de -0,2004V.

- Calcular el pH y la $[\text{H}^+]$ del problema.
- Suponer que en la Ecuación 23-24, K es imprecisa en $\pm 0,001$ V como consecuencia de la diferencia en el potencial de unión entre la estandarización y la medida. ¿Cuál es el intervalo de la $[\text{H}^+]$ asociado a esta imprecisión?
- ¿Cuál es el error relativo en la $[\text{H}^+]$ asociado con esta incertidumbre en E_j ?

23-21. Se ha encontrado que la siguiente celda tiene un potencial de 0,2714 V:



- Cuando la disolución de actividad conocida de magnesio se reemplazó por la disolución problema, se encontró que el potencial era de 0,1901 V. ¿Cuál era el pMg de la disolución problema?
- Suponiendo una imprecisión de $\pm 0,002$ V en el potencial de unión, ¿cuál es el intervalo de actividades del Mg^{2+} dentro del cual se puede esperar que esté el valor verdadero?
- ¿Cuál es el error relativo en la $[\text{Mg}^{2+}]$ asociado con la incertidumbre en E_j ?

23-22. Una muestra de 0,400 g de pasta de dientes se hirvió con 50 mL de una disolución que contenía un tampón de citrato y NaCl para extraer el ion fluoruro. Después de enfriar, la disolución se diluyó exactamente a 100 mL. Se encontró que el potencial de un sistema electrodo selectivo de iones/electrodo de calomelanos, en una alícuota de 25,0 mL de la muestra era -0,1823 V. La adición de 5,0 mL de una disolución que contiene 0,00107 mg F⁻/mL hizo cambiar el potencial a -0,2446 V.

Calcular el porcentaje en peso de F⁻ en la muestra.

Capítulo 24

Culombimetría

Tres métodos electroanalíticos se basan en la oxidación o reducción electródica de un analito durante un tiempo suficiente para asegurar su conversión cuantitativa a un nuevo estado de oxidación. Estos métodos son: la **culombimetría a potencial constante**, la **culombimetría a intensidad constante**, o las **valoraciones culombimétricas** y la **electrogravimetría**. En los métodos electrogravimétricos se pesa el producto de la electrólisis que se deposita sobre uno de los electrodos. Por otra parte, en los procedimientos culombimétricos, es la cantidad de electricidad necesaria para completar la electrólisis la que sirve como medida de la cantidad de analito presente.

Los tres métodos tienen, en general, una moderada selectividad, sensibilidad y rapidez; en muchos casos, están entre los métodos más exactos y precisos al alcance del químico, siendo frecuentes imprecisiones relativas de unas décimas por ciento. Finalmente, a diferencia de los otros métodos tratados en este texto, estos tres no requieren calibración frente a patrones, esto es, la relación funcional entre la cantidad medida y el peso del analito se puede deducir de la teoría.

Se encuentra una descripción de los métodos electrogravimétricos en muchos libros de texto ele-

mentales¹. Por tanto, en este capítulo sólo se considerarán los dos métodos culombimétricos.

24A. RELACIONES INTENSIDAD-POTENCIAL DURANTE LA ELECTRÓLISIS

Una electrólisis puede llevarse a cabo de una de las tres maneras siguientes: (1) manteniendo constante el potencial aplicado, (2) manteniendo constante la intensidad de corriente de la electrólisis, o (3) manteniendo constante el potencial del electrodo de trabajo. Es útil considerar las consecuencias de cada uno de estos modos de operación. Para los tres, el comportamiento de la celda se rige por una ecuación similar a la Ecuación 22-20.

$$E_{\text{apl}} = E_c - E_a + (\eta_{\text{cc}} + \eta_{\text{ck}}) + (\eta_{\text{ac}} + \eta_{\text{ak}}) - IR \quad (24-1)$$

donde E_{apl} es el potencial aplicado desde una fuente externa y E_c y E_a son los potenciales reversibles o termodinámicos asociados con el cátodo y el ánodo.

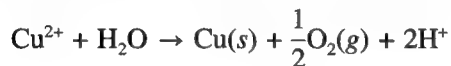
¹ Por ejemplo, véase D. A. Skoog, D. M. West y F. J. Holler, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 7.ª ed., Capítulo 20. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1995.

do, respectivamente; sus valores pueden calcularse a partir de los potenciales estándar mediante la ecuación de Nernst. Los términos η_{cc} y η_{ck} son sobrepotenciales debidos a la polarización de concentración y a la polarización de transferencia de carga en el cátodo; η_{ac} y η_{ak} son los correspondientes sobrepotenciales anódicos (véase Apartado 22 E-2). Es importante apreciar que los cuatro sobrepotenciales *siempre llevan un signo negativo* porque son potenciales que deben superarse para que pase carga a través de la celda².

De los siete términos de potencial del lado derecho de la Ecuación 24-1, solo E_c y E_a se pueden deducir de cálculos teóricos; los otros sólo se pueden evaluar empíricamente.

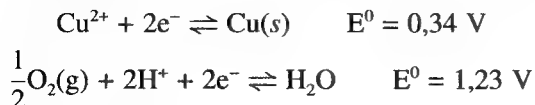
24A-1. Funcionamiento de una celda a un potencial aplicado fijo

La manera más simple de llevar a cabo una electrólisis analítica es mantener el potencial aplicado a la celda en un valor más o menos constante. Sin embargo, este procedimiento suele tener diversas limitaciones. Estas limitaciones pueden comprenderse si se consideran las relaciones intensidad-potencial en una celda electroquímica típica. Por ejemplo, considérese una celda para la determinación de cobre(II), que consta de dos electrodos de platino, cada uno con un área superficial de 150 cm² sumergidos en 200 mL de una disolución que es 0,0220 M en ion cobre(II) y 1,00 M en ion hidrógeno. La resistencia de la celda es 0,50 Ω . Al aplicar una diferencia de potencial adecuada entre los dos electrodos, el cobre se deposita en el cátodo, y se desprende oxígeno a una presión parcial de 1,00 atm en el ánodo. La reacción global en la celda es:



Potencial inicial termodinámico

Los datos de potenciales estándar para las dos semirreacciones de la celda que se considera son



² A lo largo de este capítulo, los potenciales de unión se desprecian, ya que son suficientemente pequeños para no tener relevancia en la discusión.

Utilizando el método mostrado en el Ejemplo 22-6, puede demostrarse que el potencial termodinámico para esta celda es -0,94 V. Por tanto, no debería esperarse paso de corriente si se aplican potenciales menos negativos; a potenciales más negativos, debería observarse un aumento lineal de la intensidad de corriente en ausencia de polarización de transferencia de carga o de concentración.

Estimación del potencial necesario

Para la celda que se está considerando, la polarización de transferencia de carga tiene lugar sólo en el ánodo donde se desprende el oxígeno, siendo la reacción catódica rápida y reversible. Esto es, en la Ecuación 24-1 η_{ck} es cero. Además, la polarización de concentración en el ánodo es despreciable en todo momento ya que el reactante anódico (agua) está en un gran exceso comparado con los cambios de concentración que tienen lugar como consecuencia de la electrólisis; por tanto, la capa superficial nunca llegará a estar sin reactante, y η_{ac} en la Ecuación 24-1 es también despreciable. Finalmente, se puede ver fácilmente, si se efectúan las sustituciones adecuadas en la ecuación de Nernst, que el aumento en la concentración de ion hidrógeno debido a la reacción anódica da lugar a un cambio despreciable en el potencial del electrodo (<0,01 V); por tanto, el potencial termodinámico del ánodo se mantiene constante durante la electrólisis. Así, para este ejemplo, la Ecuación 24-1 se reduce a

$$E_{\text{apl}} = E_c - E_a + \eta_{cc} + \eta_{ak} - IR \quad (24-2)$$

Supóngase ahora que se quiere operar la celda con una intensidad de corriente inicial de 1,5 A, que corresponde a una densidad de corriente de 0,010 A/cm². En una tabla obtenida en la bibliografía científica³ se encuentra que el sobrepotencial del oxígeno tiene un valor de alrededor de -0,85 V. Además, la polarización de concentración es despreciable al principio porque la concentración de iones cobre es inicialmente elevada. La Ecuación 24-2 da entonces

$$\begin{aligned} E_{\text{apl}} &= 0,29 - 1,23 + 0 + (-0,85) - 0,050 \times 1,5 = \\ &= -2,54 \text{ V} \end{aligned}$$

³ *Handbook of Analytical Chemistry*, L. Meites, Ed., páginas 5-184. New York: McGraw-Hill, 1963.

Por tanto, una estimación aproximada del potencial necesario para producir una intensidad de corriente inicial de 1,5 A es $-2,5$ V.

Cambios de corriente durante una electrólisis a potencial aplicado constante

Es útil considerar los cambios de intensidad de corriente en la celda que se está considerando cuando el potencial se mantiene constante en $-2,5$ V durante la electrólisis. En este caso, debe esperarse una disminución de la intensidad de corriente con el tiempo, debido a la disminución de iones cobre en la disolución, así como a un aumento en la polarización de concentración catódica. En realidad, con la aparición de la polarización de concentración, la intensidad de corriente disminuye de forma exponencial con el tiempo. Es decir,

$$I_t = I_0 e^{-kt}$$

donde I_t es la intensidad de corriente t minutos después de la aparición de la polarización e I_0 es la intensidad de corriente inicial. Lingane⁴ demostró que los valores para la constante k se pueden evaluar a partir de la relación

$$k = \frac{25,8 DA}{V\delta}$$

donde D es el coeficiente de difusión en cm^2/s , o la velocidad a la que difunde el reactante en un gradiente de concentración unidad. El parámetro A es el área superficial del electrodo en cm^2 , V es volumen de la disolución en cm^3 y δ es el espesor de la capa superficial en la que existe el gradiente de concentración. Valores típicos de D y δ son $10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ y $2 \times 10^{-3} \text{ cm}$. (La constante 25,8 incluye un factor de 60 para pasar D a $\text{cm}^2/\text{minuto}$, haciendo así k compatible con las unidades de t en la ecuación para I_t .)

Cuando el potencial inicial aplicado es $-2,5$ V, se comprueba que de forma prácticamente inmediata después de la aplicación del potencial, se produce una polarización de concentración y por tanto una disminución exponencial de la intensidad de corriente. La Figura 24-1a representa este comportamiento; la curva mostrada se dedujo para la celda en estudio con ayuda de las dos ecuaciones anterior-

res. Después de 30 minutos, la intensidad de corriente había disminuido desde los 1,5 A iniciales hasta 0,08 A; durante este tiempo, aproximadamente el 96 por 100 del cobre se había depositado.

Cambios de potencial durante una electrólisis a potencial aplicado constante

Es instructivo considerar los cambios observados en los diversos potenciales de la Ecuación 24-2 a medida que tiene lugar la electrólisis que estamos considerando; en la Figura 24-1b se representan estos cambios.

Como se mencionó anteriormente, el potencial termodinámico del ánodo se mantiene sustancialmente constante durante la electrólisis debido al gran exceso de reactante (agua) y al pequeño cambio en la concentración del producto de la reacción (H^+). El potencial del cátodo reversible E_c se hace menor (más negativo) a medida que disminuye la concentración de cobre. La curva para E_c en la Figura 24-1b se dedujo sustituyendo la concentración de cobre, calculada después de varios períodos de electrólisis, en la ecuación de Nernst. Obsérvese que el desplazamiento negativo del potencial es aproximadamente lineal en el tiempo durante un período considerable.

Los cambios en la caída IR que se muestra en la Figura 24-1b son paralelos a los cambios de intensidad de corriente mostrados en la Figura 24-1a. El signo negativo se emplea por coherencia con la Ecuación 24-2.

Como muestra la curva superior de la Figura 24-1b, el sobrepotencial para el oxígeno η_{ak} también se hace menos negativo a medida que la intensidad de corriente, y por tanto la densidad de corriente disminuyen. Los datos de esta curva se obtuvieron de recopilaciones más extensas que se encuentran en la referencia del pie de página número 3.

El hecho más significativo de la Figura 24-1b es la curva que representa el cambio en el *potencial catódico total* ($E_c + \eta_{\text{cc}}$) en función del tiempo. Es evidente que a medida que IR y η_{ak} se hacen menos negativos, uno o más de los otros potenciales de la Ecuación 24-2 *deben hacerse más negativos*. Debido al gran exceso de reactante y producto en el ánodo, su potencial permanece sustancialmente constante. Por tanto, los *únicos* potenciales que pueden cambiar son los asociados con el cátodo; si se comparan las curvas señaladas como E_c y ($E_c + \eta_{\text{cc}}$), es evidente que la mayor parte de esta caída

⁴ Véase J. J. Lingane, *Electroanalytical Chemistry*, 2.^a ed., páginas 223-229. New York: Interscience, 1958.

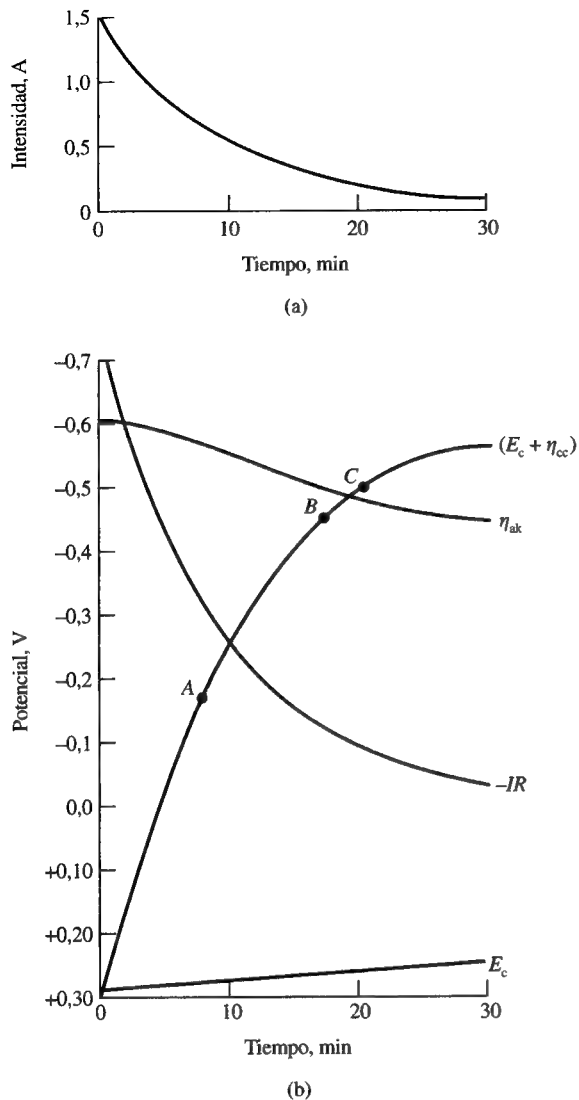


Figura 24-1. Cambios en (a) intensidad de corriente y (b) potenciales durante la deposición electrolítica de Cu^{2+} . Los puntos A y B son los potenciales a los cuales el Pb y el Cd empezarían a codepositarse si estuvieran presentes. El punto C es el potencial al cual el H_2 empezaría a formarse en el cátodo. Cualquiera de estos procesos distorsionaría la curva ABC.

negativa es consecuencia del aumento de la polarización de concentración (η_{cc} se hace más negativo). Es decir, incluso con agitación vigorosa, los iones cobre no llegan a la superficie del electrodo con suficiente rapidez como para evitar la polarización. El resultado es una rápida disminución en IR y un desplazamiento negativo correspondiente del potencial total del cátodo.

El desplazamiento del potencial del cátodo que acompaña a la polarización de concentración pro-

voca con frecuencia la codeposición de otras especies y la pérdida de selectividad. Por ejemplo, los puntos A y B de la curva de potencial del cátodo indican potenciales y tiempos aproximados en los que los iones plomo y cadmio empezarían a depositarse si estuvieran presentes en concentraciones aproximadamente iguales a las concentraciones iniciales de ion cobre. Otro hecho que puede ocurrir en ausencia de plomo, cadmio o de otras especies fácilmente reducibles sería el desprendimiento de hidrógeno aproximadamente en el punto C (este proceso no se tuvo en cuenta en la deducción de la curva de la Figura 24-1a).

Las interferencias que acabamos de describir se pueden evitar disminuyendo en valor absoluto el potencial aplicado en varias décimas de voltio para que el desplazamiento negativo del potencial del cátodo no pueda alcanzar nunca el valor al cual los iones interferentes reaccionan. Sin embargo, la consecuencia de esta medida es una disminución de la intensidad de corriente y, normalmente, un gran aumento en el tiempo necesario para completar el análisis.

En el mejor de los casos, una electrólisis a potencial de celda constante tan sólo puede utilizarse para separar cationes fácilmente reducible, tales como Pb(II), Cd(II), Ag(I), Tl(I), Cu(II), y Zn(II) de aquellos que son más difíciles de reducir que el ion hidrógeno, tales como el Al(III). Debe esperarse un desprendimiento de hidrógeno al final de la electrólisis y este hecho evita la interferencia de cationes que se reducen a potenciales más negativos.

24A-2. Electrólisis a intensidad constante

La electrodeposición analítica que se está considerando, al igual que otras, puede llevarse a cabo manteniendo constante la intensidad de corriente, en lugar del potencial aplicado. En este caso, se requiere aumentar periódicamente el potencial aplicado mientras tiene lugar la electrólisis.

En el apartado precedente, se ha visto que la polarización de concentración en el cátodo provoca una disminución de la intensidad de corriente. Inicialmente, este efecto se puede compensar parcialmente aumentando el potencial aplicado. Las fuerzas electrostáticas posponen, en este caso, el inicio de la polarización de concentración al aumentar la rapidez a la que los iones cobre llegan a la superficie del electrodo. Pronto, sin embargo, la disolución queda tan mermada en iones cobre que la di-

fusión, la atracción electrostática y la agitación no pueden mantener la superficie del electrodo abastecida con suficientes iones cobre como para mantener la corriente deseada. Cuando esto ocurre, los aumentos posteriores en E_{apl} provocan cambios rápidos en η_{cc} y, por tanto, en el potencial del cátodo; entonces tiene lugar la codeposición de hidrógeno (o de otras especies reducibles). Finalmente el potencial del cátodo se estabiliza en un valor fijado por el potencial estándar y el sobrepotencial de la nueva reacción en el electrodo; no son ya necesarios grandes aumentos del potencial de la celda para mantener una corriente constante. El cobre continúa depositándose mientras que los iones cobre(II) alcanzan la superficie del electrodo; sin embargo, la contribución de este proceso a la intensidad de corriente total se hace cada vez más y más pequeña a medida que la deposición se hace más completa. Pronto predomina el proceso alternativo, tal como la reducción de los iones hidrógeno o nitrato. Los cambios en el potencial del cátodo en condiciones de corriente constante se muestran en la Figura 24-2.

24A-3. Electrólisis a potenciales del electrodo de trabajo constantes

De la ecuación de Nernst, se deduce que una disminución de diez veces en la concentración del ion que se está depositando requiere un desplazamiento negativo en el potencial de sólo $0,0592/n$ V. Por tanto, los métodos electroanalíticos son, en potencia, razonablemente selectivos. Por ejemplo, cuando la concentración de cobre de una disolución disminuye desde 0,1 M a 10^{-6} M, el potencial termodinámico del cátodo E_c cambia desde un valor inicial de +0,31 hasta +0,16 V. Entonces, en teoría, debería ser factible separar el cobre de cualquier otro elemento que no se deposite en este intervalo de potencial de 0,15 V. Las especies que se depositen cuantitativamente a potenciales más positivos que +0,31 V se pueden eliminar por prerreducción; los iones que necesiten potenciales más negativos que +0,16 V no deberían interferir en la deposición de cobre. Por tanto, si se acepta como una separación cuantitativa una reducción en la concentración del analito hasta 10^{-6} M, se deduce que los iones divalentes que difieren en sus potenciales estándares en aproximadamente 0,15 V o más pueden, teóricamente, separarse cuantitativamente por electrodeposición, siempre que sus con-

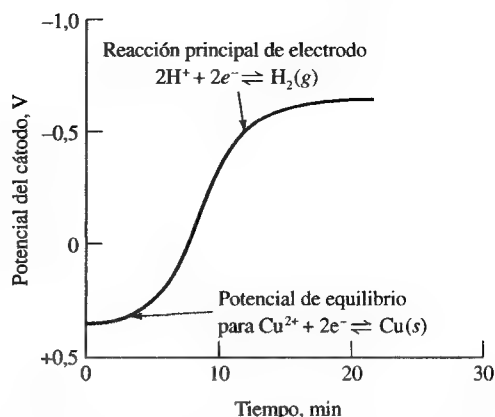


Figura 24-2. Cambios en el potencial del cátodo durante la deposición de cobre con una intensidad de corriente constante de 1,5 A. En este caso, el potencial del cátodo es igual a $(E_c + \eta_{cc})$.

centraciones iniciales sean aproximadamente las mismas. A su vez, los iones monovalentes y trivalentes necesitarán diferencias de alrededor de 0,30 y 0,10 V, respectivamente.

Para abordar estas separaciones teóricas, dentro de un período de electrólisis razonable, se requiere una técnica más sofisticada que las hasta ahora tratadas, porque si no se restringiera la polarización de concentración en el cátodo, impediría todas las separaciones salvo las más simples. La variación del potencial del cátodo está gobernada por la disminución en la caída IR (Fig. 24-1b). Así, cuando se emplean, al principio, intensidades de corriente elevadas, se puede esperar que al final el cambio en el potencial del cátodo sea elevado. Por otro lado, si la celda opera a intensidades de corrientes bajas para que se reduzca la variación en el potencial del cátodo, el tiempo necesario para completar la deposición puede ser prohibitivamente largo. Una respuesta obvia a este dilema es iniciar la electrólisis aplicando a la celda un potencial que sea suficientemente elevado para asegurar una intensidad de corriente razonable; en ese momento el potencial se disminuye de forma continua para mantener el potencial del cátodo al nivel necesario para efectuar la separación deseada. Desafortunadamente, no es factible predecir, desde un punto de vista teórico, los cambios necesarios en el potencial aplicado debido a la incertidumbre en las variables que afectan a la deposición, tales como efectos del sobrepotencial y quizás los cambios de conductividad. De hecho, tampoco ayuda el medir la diferencia de potencial entre los electrodos, puesto que

esta medida sólo proporciona el potencial total de celda, E_{apl} . La alternativa es medir el potencial del electrodo de trabajo frente a un tercer electrodo cuyo potencial en la disolución es conocido y constante, esto es, un electrodo de referencia. El potencial aplicado entre el electrodo de trabajo y su electrodo auxiliar puede ajustarse a un nivel que proporcione el potencial deseado en el cátodo (o en el ánodo) con respecto al electrodo de referencia. Esta técnica se denomina *electrólisis a potencial del cátodo (o del ánodo) controlado* o, a veces, *electrólisis potenciostática*.

Los detalles experimentales que permiten llevar a cabo una electrólisis a potencial del cátodo controlado se presentan en un apartado posterior. Por ahora, es suficiente señalar que la diferencia de potencial entre el electrodo de referencia y el cátodo se mide con un voltímetro electrónico. La diferencia de potencial aplicada entre el electrodo de trabajo y su electrodo auxiliar se controla con un divisor de voltaje a fin de que el potencial del cátodo se mantenga a un nivel adecuado para la separación. La Figura 24-3 es un esquema de un instrumento sencillo que permite la deposición a un potencial del cátodo constante.

Un instrumento del tipo mostrado en la Figura 24-3 puede trabajar a potenciales aplicados iniciales relativamente elevados para dar intensidades de corriente altas. Sin embargo, a medida que la electrólisis avanza, es necesario disminuir el potencial aplicado a través de AC. Esta disminución

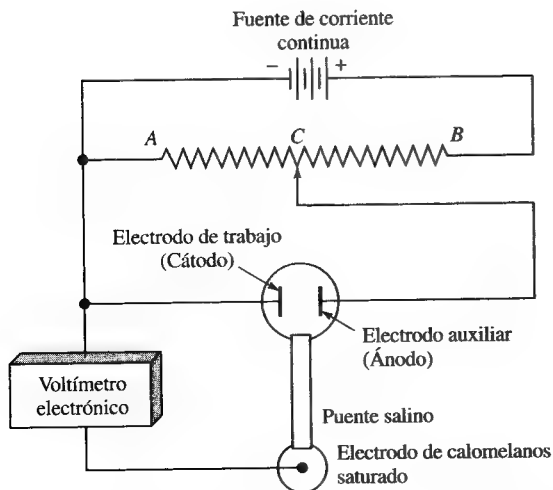


Figura 24-3. Aparato para electrólisis a potencial del cátodo controlado. El contacto C se ajusta continuamente para mantener el potencial del cátodo en el valor deseado.

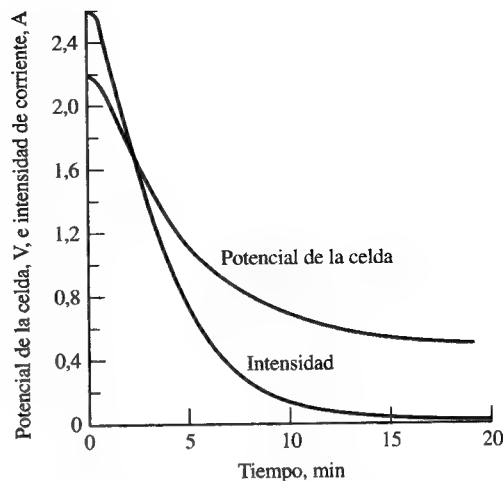


Figura 24-4. Cambios en el potencial aplicado y en la intensidad de corriente durante una electrólisis a potencial del cátodo controlado. Deposición del cobre sobre un cátodo mantenido a $-0,36$ V vs. ECS. (Datos experimentales de J. J. Lingane, *Anal. Chem. Acta*, 1948, 2, 590. Con permiso.)

reduce a su vez la corriente. La finalización de la electrólisis vendrá indicada por la aproximación de la intensidad de corriente a cero. Los cambios que tienen lugar en una electrólisis típica a potencial del cátodo constante se representan en la Figura 24-4. A diferencia de los métodos electrolíticos descritos con anterioridad, esta técnica exige una atención constante durante la operación. Normalmente, se toman las medidas necesarias para el control automático; de otra manera el tiempo que el operador necesita representa uno de los mayores inconvenientes del método a potencial del cátodo controlado. Un sencillo potenciostato, tal como el que se muestra en la Figura 24-6, es adecuado para el control del potencial de un electrodo de trabajo con respecto a un electrodo de referencia.

24B. INTRODUCCIÓN A LOS MÉTODOS CULOMBIMÉTRICOS DE ANÁLISIS

La coulombimetría abarca un grupo de métodos analíticos que conllevan la medida de la cantidad de electricidad (en culombios) necesaria para modificar cuantitativamente el estado de oxidación del analito. Al igual que los métodos gravimétricos, la coulombimetría ofrece la ventaja de que la constante de proporcionalidad entre la cantidad medida (culombios en este caso) y el peso de anali-

to se puede deducir a partir de constantes físicas conocidas; por tanto, normalmente no se requiere calibración o estandarización. Los métodos culombimétricos son a menudo tan exactos como los procedimientos gravimétricos o volumétricos; son generalmente más rápidos y más adecuados que éstos. Finalmente, los procedimientos culombimétricos se adaptan fácilmente a la automatización⁵.

24B-1. Unidades de la cantidad de electricidad

La cantidad de electricidad o carga puede expresarse en unidades de culombio (C) y de faraday (F). *El culombio es la cantidad de carga que es transportada en un segundo por una intensidad de corriente constante de un amperio.* Por tanto, para una intensidad de corriente constante de I amperios durante t segundos, el número de culombios Q viene dado por la expresión

$$Q = It \quad (24-3)$$

Para una intensidad de corriente variable, el número de culombios viene dado por la integral

$$Q = \int_0^t Idt \quad (24-4)$$

El faraday es la carga en culombios asociada con un mol de electrones. La carga del electrón es $1,60218 \times 10^{-19}$ C, y se puede, por tanto, escribir

$$1F = 6,02218 \times 10^{23} \frac{e^-}{\text{mol } e^-} \times 1,60218 \times 10^{-19} \frac{\text{C}}{e^-} = 96.485 \frac{\text{C}}{\text{mol } e^-}$$

La relación entre la carga y la cantidad electrolyzada de una especie viene dada por la ley de Faraday, que es

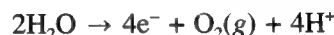
$$Q = nFN \quad (24-5)$$

⁵ Para resúmenes de métodos culombimétricos, véase E. Bishop, en *Comprehensive Analytical Chemistry*, C. L. Wilson y D. W. Wilson, Eds., Vol. IID, New York: Elsevier, 1975; D. J. Curran, en *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, 2.^a ed., P. T. Kissinger y W. R. Heineman, Eds., Capítulo 25, New York: Marcel Dekker, 1996; A. J. Bard y L. B. Faulkner, *Electrochemical Methods*, Capítulo 10, New York: Wiley, 1980; G. W. C. Milner y G. Phillips, *Coulometry in Analytical Chemistry*, New York: Pergamon Press, 1967.

EJEMPLO 24-1

Se utilizó una intensidad de corriente constante de 0,800 A para depositar cobre en el cátodo y oxígeno en el ánodo de una celda electrolítica. Calcular los gramos de cada producto que se formaron en 15,2 minutos, suponiendo que no tienen lugar otras reacciones redox.

Los pesos equivalentes se determinan considerando las dos semirreacciones



A partir de la Ecuación 24-3, se encuentra

$$Q = 0,800 \text{ A} \times 15,2 \text{ min} \times 60 \text{ s/min} \\ = 729,6 \text{ A} \cdot \text{s} = 729,6 \text{ C}$$

$$\text{wt Cu} = \frac{729,6 \text{ C}}{96.485 \text{ C/mol } e^-} \times \frac{1 \text{ mol Cu}}{2 \text{ mol } e^-} \times \frac{63,5 \text{ g Cu}}{\text{mol Cu}} \\ = 0,240 \text{ g Cu}$$

y

$$\text{wt O}_2 = \frac{729,6 \text{ C}}{96.485 \text{ C/mol } e^-} \times \frac{1 \text{ mol O}_2}{4 \text{ mol } e^-} \times \frac{32,0 \text{ g O}_2}{\text{mol O}_2} \\ = 0,0605 \text{ g O}_2$$

24B-2. Tipos de métodos culombimétricos

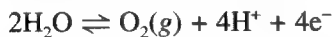
Para el análisis culombimétrico se utilizan dos técnicas generales, a saber la *potenciostática* y la *amperostática*. La primera requiere mantener el potencial del *electrodo de trabajo* (electrodo en el que tiene lugar la reacción analítica) en un valor constante en el que tiene lugar la oxidación o reducción cuantitativa del analito sin intervención de las especies menos reactivas de la muestra o del disolvente. En este caso, la intensidad de corriente es inicialmente elevada pero disminuye rápidamente y se aproxima a cero a medida que el analito es eliminado de la disolución (véase Fig. 24-4). La cantidad de electricidad necesaria se mide normalmente con un integrador electrónico, aunque también se han utilizado otros dispositivos y técnicas para medir la carga.

El método amperostático de la coulombimetría utiliza una intensidad de corriente constante, que se mantiene hasta que un indicador señala la finalización de la reacción analítica. La cantidad de electricidad necesaria para alcanzar el punto final se calcula entonces a partir de la intensidad de corriente y del tiempo que ésta circula. Este último método ha encontrado más aplicaciones que el primero; frecuentemente se le denomina valoración coulombimétrica por razones que se pondrán de manifiesto más adelante.

Un requisito fundamental de todos los métodos coulombimétricos es que el analito interaccione con la corriente con una eficacia del 100 por 100. Este requisito quiere decir que cada faraday de carga eléctrica debe producir un cambio químico en el analito que corresponda al de un mol de electrones. Sin embargo, una eficacia de la corriente del 100 por 100 no implica necesariamente que el analito tenga que participar directamente en el proceso de transferencia electrónica en el electrodo. En realidad, en la mayoría de las ocasiones, la sustancia que se está determinando participa total o parcialmente en una reacción que es secundaria respecto a la reacción electrodica. Por ejemplo, al inicio de la oxidación del hierro(II) en un ánodo de platino toda la corriente proviene de la reacción



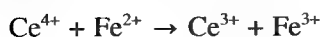
Sin embargo, a medida que disminuye la concentración de hierro(II), la polarización de concentración provocará la elevación del potencial del ánodo hasta que ocurra la descomposición del agua como un proceso competitivo. Esto es,



La carga requerida para completar la oxidación del hierro(II) excedería entonces la demandada en teoría. Para evitar el consecuente error, puede introducirse un exceso no medido de cerio(III) al principio de la electrólisis. Este ion se oxida a un potencial anódico menor que el agua:



El cerio(IV) producido difunde rápidamente desde la superficie del electrodo, y entonces oxida una cantidad equivalente de hierro(II):



El efecto neto es una oxidación electroquímica del hierro(II) con una eficacia de la intensidad de corriente del 100 por 100 a pesar de que sólo una fracción de los iones hierro(II) se oxida directamente en la superficie del electrodo.

La determinación coulombimétrica de cloruro proporciona otro ejemplo de un proceso indirecto. En este caso, un electrodo de plata sirve de ánodo, y los iones plata son producidos por la corriente. Estos cationes difunden en la disolución y precipitan con el cloruro. Se alcanza una eficacia de la corriente del 100 por 100 con respecto al ion cloruro a pesar de que este ion ni se oxida ni se reduce en la celda.

24C. CULOMBIMETRÍA POTENCIOSTÁTICA

En coulombimetría potenciostática, el potencial del electrodo de trabajo se mantiene en un valor constante que provocará que el analito reaccione cuantitativamente con la corriente sin que intervengan otros componentes de la muestra. Un análisis de este tipo posee todas las ventajas de un método electrogravimétrico y no está sujeto a la limitación impuesta por la necesidad de obtener un producto que se pueda pesar. Esta técnica puede, por tanto, aplicarse a sistemas que den depósitos con deficientes propiedades físicas al igual que a reacciones que no den productos sólidos. Por ejemplo, el arsénico puede determinarse coulombimétricamente por oxidación electrolítica del ácido arsenioso (H_3AsO_3) a ácido arsénico (H_3AsO_4) en un ánodo de platino. De manera similar, la conversión analítica del hierro(II) a hierro(III) se puede llevar a cabo con el adecuado control del potencial del ánodo.

24C-1. Instrumentación

La instrumentación que se utiliza en la coulombimetría potenciostática se compone de una celda de electrólisis, un potenciostato y un dispositivo integrador para determinar el número de coulombios mediante la Ecuación 24-4.

Celdas

La Figura 24-5 ilustra dos tipos de celdas que se utilizan en coulombimetría potenciostática. La primera consta de un electrodo de trabajo de rejilla de

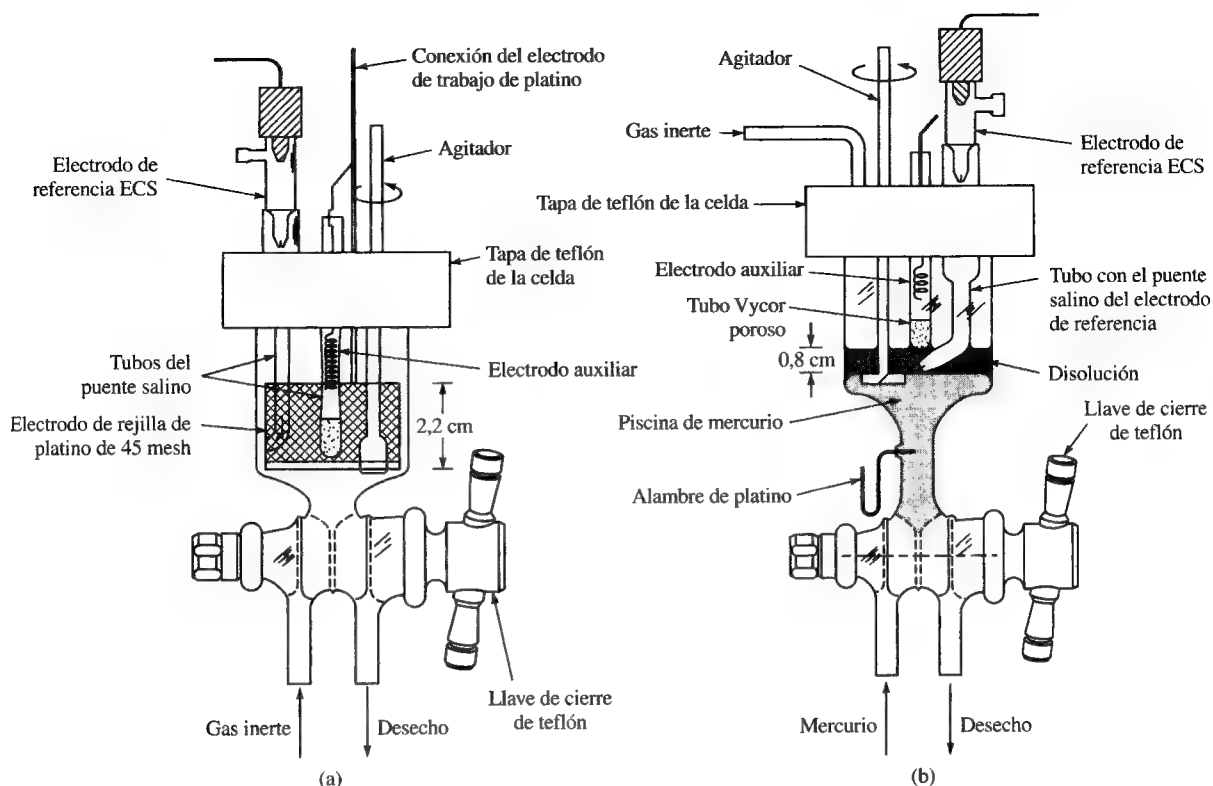


Figura 24-5. Celdas de electrólisis para culombimetría potencioestática. Electrodo de trabajo: (a) rejilla de platino; (b) piscina de mercurio. (Reproducido con permiso de J. E. Harrar y C. L. Pomernacki, *Anal. Chem.*, 1973, 45, 57. Copyright 1973 American Chemical Society.)

platino y un electrodo auxiliar de alambre de platino, que está separado de la disolución a analizar por un tubo poroso que contiene el mismo electrólito soporte que la disolución a analizar (Fig. 24-5a). A veces es necesario separar el electrodo auxiliar para evitar que sus productos de reacción interfieran en el análisis. Un electrodo de referencia de calomelanos está en contacto con la disolución a analizar mediante un puente salino. A menudo este puente también contiene el mismo electrólito que la disolución a analizar.

La segunda clase de celda es una tipo piscina de mercurio. Un cátodo de mercurio es particularmente útil para separar elementos fácilmente reducibles como etapa preliminar en un análisis. Por ejemplo, el cobre, el níquel, el cobalto, la plata y el cadmio se separan fácilmente de iones tales como el aluminio, el titanio, los metales alcalinos y los fosfatos. Los elementos precipitados se disuelven en el mercurio; tiene lugar poco desprendimiento de hidrógeno incluso cuando se aplican potenciales elevados debido a los efectos del elevado sobrepotencial. Una celda culombimétrica tal como la que se

muestra en la Figura 24-5b es también útil para la determinación culombimétrica de iones metálicos y también de ciertos tipos de compuestos orgánicos.

Potencioestatos

Un potencioestado es un dispositivo electrónico que mantiene el potencial de un electrodo de trabajo en un valor constante respecto al electrodo de referencia. Dos de estos dispositivos se muestran en la Figura 3-12 (página 66). La Figura 24-6c es un esquema de un aparato para culombimetría potencioestática, que contiene un tipo algo diferente de potencioestado. Con el objeto de comprender cómo funciona este circuito, considérese el circuito equivalente mostrado en la Figura 24-6a. Las dos resistencias en este diagrama corresponden a las resistencias en las dos partes de la celda electroquímica que se muestra en la Figura 24-6b. Aquí, R_s es la resistencia de la celda entre el electrodo auxiliar y la punta P del electrodo de referencia, y R_u es la denominada *resistencia no compensada de celda*, que es la resistencia de la celda entre P y el elec-

trodo de trabajo. Debido a la resistencia extremadamente elevada de las entradas del amplificador operacional, no hay corriente en la espira de realimentación hasta la entrada inversora, por lo que la diferencia de potencial entre P y la entrada inversora del amplificador operacional es simplemente el potencial del electrodo de referencia E_{ECS} .

Recuérdese que en una configuración no inversora, el amplificador trabaja para mantener iguales E_1 y E_2 y la intensidad de corriente en la celda I_c es suministrada por el amplificador operacional para mantener esta condición. Si se considera el camino entre la entrada inversora y el circuito común a la salida, vemos que

$$E_2 = E_1 = E_{ECS} + I_c R_u = E_{ECS} + E_c$$

donde E_c , el potencial del cátodo, es esencialmente igual a la diferencia de potencial entre P y el cátodo

de trabajo (véase Fig. 24-6b). Puesto que E_1 y E_{ECS} son constantes, $I_c R_u$ debe ser también constante. Si R_u o R_s cambian en cualquier sentido durante la electrólisis, el voltaje de salida del amplificador operacional cambia en el sentido de mantener $E_c = I_c R_u$ en un valor constante. Si R_u aumenta como resultado de un aumento de la resistencia de la celda o de la polarización de concentración, el voltaje de salida del amplificador operacional disminuye, lo que lleva a una disminución en I_c ; si R_u disminuye, el voltaje de salida del amplificador operacional aumenta lo necesario para mantener E_c constante.

El circuito práctico de la Figura 24-6c muestra otros componentes que son necesarios para llevar a cabo una coulombimetría potencioestática. Este circuito incluye una fuente de potencial variable conectada a la entrada no inversora del amplificador operacional para que pueda variarse el potencial con-

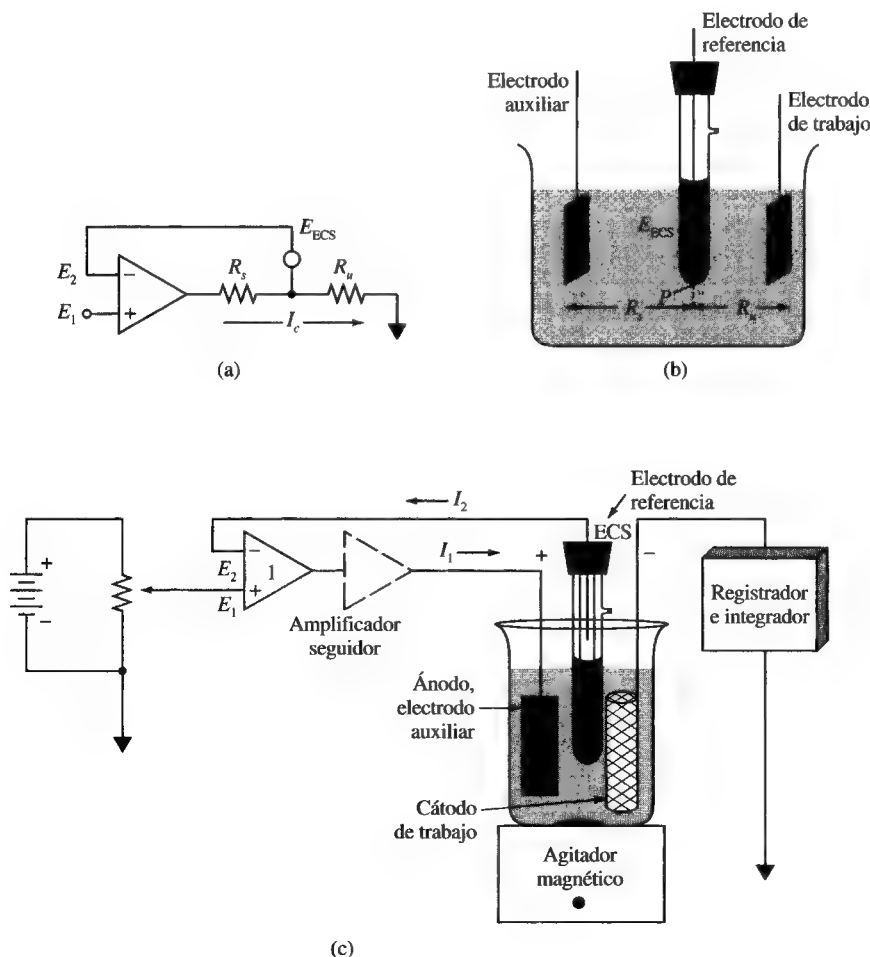


Figura 24-6. Esquema de un sistema para coulombimetría potencioestática. (a) Circuito equivalente. (b) Resistencia dentro de la celda. (c) Circuito real.

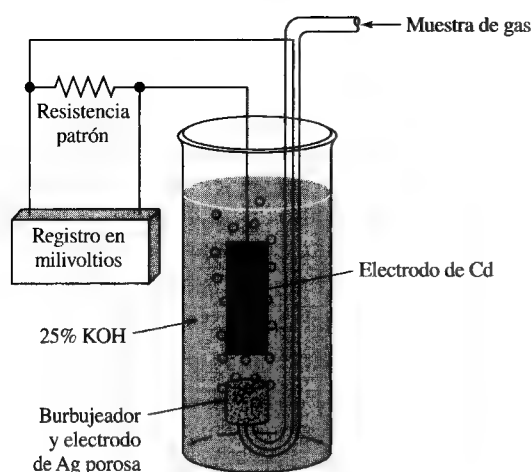


Figura 24-7. Instrumento para el control continuo del contenido de O_2 en una corriente de gas.

trolado por el potencióstato, un amplificador seguidor para proporcionar las elevadas corrientes que a menudo son necesarias, y un registrador e integrador. La presencia del amplificador seguidor no tiene efecto sobre el circuito de control del potencial.

Integradores

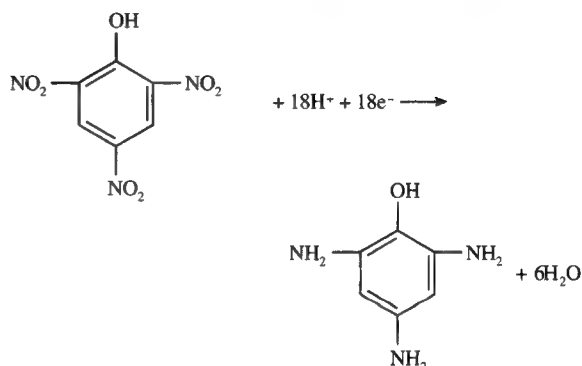
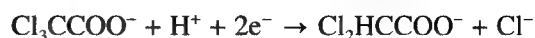
Como se mostró en el Apartado 3E-3, se pueden construir integradores a partir de circuitos amplificadores operacionales. Sin embargo, los aparatos más modernos para culombimetría potencióstática emplean integradores digitales para determinar el número de culombios necesarios para completar la electrólisis.

24C-2. Aplicaciones

Los métodos culombimétricos a potencial controlado se han aplicado para la determinación de alrededor de 55 elementos en compuestos inorgánicos⁶. El mercurio se presenta como el cátodo más adecuado y se han descrito métodos para la deposición de más de dos docenas de metales en este electrodo. El método ha encontrado amplia utilización en el campo de la energía nuclear para la determinación prácticamente sin interferencias de uranio y plutonio.

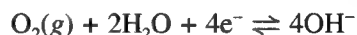
⁶ Para un resumen de las aplicaciones, véase J. E. Harrar, *Electroanalytical Chemistry*, A. J. Bard, Ed., Vol. 8. New York: Marcel Dekker, 1975; E. Bishop, en *Comprehensive Analytical Chemistry*, C. L. Wilson y D. W. Wilson, Eds., Vol. IID, Capítulo XV. New York: Elsevier, 1975.

El procedimiento culombimétrico a potencial controlado también ofrece posibilidades para la determinación electrolítica (y síntesis) de compuestos orgánicos. Por ejemplo, Meites y Meites⁷ han demostrado que el ácido tricloroacético y el ácido pícrico se reducen cuantitativamente en un cátodo de mercurio a un potencial adecuadamente controlado:



Las medidas culombimétricas permiten el análisis de estos compuestos con un error relativo de algunas décimas por ciento.

Los métodos culombimétricos a intensidad de corriente variable se utilizan con frecuencia para el control continuo y automático de las concentraciones de los constituyentes de corrientes de gases o líquidos. Un ejemplo importante es la determinación de pequeñas concentraciones de oxígeno⁸. Un esquema del aparato se muestra en la Figura 24-7. El cátodo de plata porosa sirve para dividir en pequeñas burbujas el gas que llega; la reducción del oxígeno tiene lugar cuantitativamente en los poros. O sea,



El ánodo es una lámina grande de cadmio; en este caso, la semirreacción es



Obsérvese que se forma una celda galvánica de forma que no se necesita una fuente de alimentación externa. Tampoco es necesario un potencióstato, ya que el potencial del ánodo de trabajo nunca pue-

⁷ T. Meites y L. Meites, *Anal. Chem.*, **1955**, 27, 1531; **1956**, 28, 103.

⁸ Para más detalles, véase F. A. Keidel, *Ind. Eng. Chem.*, **1960**, 52, 490.

de ser suficientemente elevado como para provocar la oxidación de otras especies. La corriente producida se hace pasar a través de una resistencia patrón y se registra la caída de potencial. La concentración de oxígeno es proporcional a este potencial, y se puede fabricar un registrador en cuyo papel se indique directamente la concentración instantánea de oxígeno. Se ha informado que este instrumento proporciona datos de concentración de oxígeno en el intervalo de 1 ppm a un 1 por 100.

24D. VALORACIONES CULOMBIMÉTRICAS (CULOMBIMETRÍA AMPEROSTÁTICA)

Una valoración culombimétrica utiliza un valorador que se genera electroquímicamente mediante una corriente constante. En algunos análisis, el proceso electroquímico activo implica sólo la generación del reactivo; un ejemplo es la valoración de haluros con iones plata producidos en un ánodo de plata. En otras valoraciones, el analito puede también interaccionar directamente con el electrodo generador; un ejemplo de esto último es la oxidación culombimétrica de hierro(II), en parte por el cerio (IV) generado electroquímicamente y en parte por una reacción electroquímica directa (Apartado 24B-2). En cualquier caso, el proceso neto debe tener una eficacia de corriente próxima al 100 por 100 con respecto a un cambio químico único en el analito.

La intensidad de corriente en una valoración culombimétrica se mantiene cuidadosamente en un nivel constante y exactamente conocido mediante un *amperostato*; el producto de esta intensidad de corriente en amperios y del tiempo en segundos requerido para alcanzar el punto final, da el número de culombios, que es proporcional a la cantidad de analito implicado en la electrólisis. El hecho de mantener la intensidad de corriente constante en esta operación impide la oxidación o reducción cuantitativas de las especies desconocidas en el electrodo generador, ya que es inevitable la polarización de concentración antes de que la electrólisis pueda completarse. El potencial del electrodo debe entonces aumentar si se va a mantener la corriente constante (Apartado 24A-2). A no ser que este aumento del potencial dé lugar a un reactivo que pueda reaccionar con el analito, la eficacia de la corriente será menor del 100 por 100. En una va-

loración culombimétrica, entonces, al menos parte y frecuentemente el total de la reacción en la que interviene el analito tiene lugar lejos de la superficie del electrodo de trabajo.

Una valoración culombimétrica, al igual que un procedimiento volumétrico más convencional, requiere algunos medios para detectar el punto de equivalencia químico. La mayoría de los puntos finales aplicables al análisis volumétrico son igualmente satisfactorios aquí; se han aplicado con éxito la observación visual de los cambios de color de los indicadores, así como medidas potenciométricas, amperométricas y de conductancia.

24D-1. Aparatos eléctricos

Los valoradores culombimétricos se pueden adquirir a través de diversas casas suministradoras de productos de laboratorio. Además, pueden montarse fácilmente a partir de componentes que se encuentran en la mayoría de los laboratorios.

La Figura 24-8 representa los componentes principales de un valorador culombimétrico típico. Se incluyen una fuente de corriente constante y un interruptor que simultáneamente inicia la corriente y pone en marcha un reloj electrónico. También se necesita un medio para medir con exactitud la intensidad de la corriente; en la Figura 24-8, se utiliza para esta medida la caída de potencial a través de la resistencia patrón R_{std} .

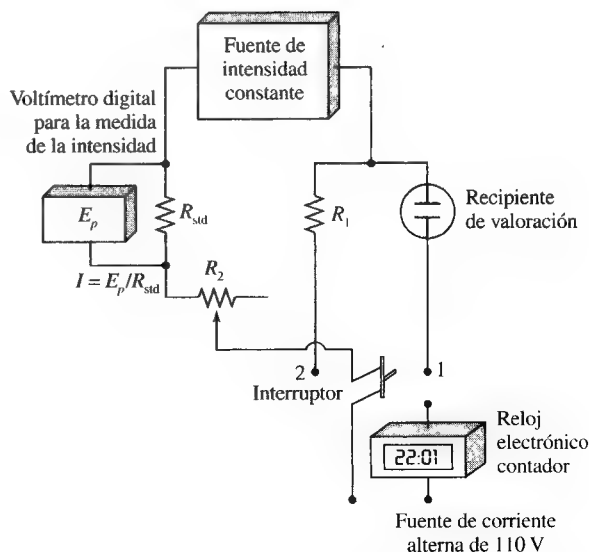


Figura 24-8. Esquema de un aparato para valoraciones culombimétricas.

En la literatura están descritos muchos amperostatos electrónicos o electromecánicos. La fácil disponibilidad de amplificadores operacionales económicos hace de su construcción una tarea sencilla (por ejemplo, véase Fig. 3-13, pág. 67).

Celdas para valoraciones culombimétricas

Se muestra una celda típica para una valoración culombimétrica en la Figura 24-9. Consta de un electrodo generador en el que se forma el reactivo y un electrodo auxiliar para completar el circuito. El electrodo generador, que debe tener un área superficial relativamente grande, es a menudo una lámina rectangular o un alambre de platino en espiral; también se puede utilizar un electrodo en forma de rejilla como el cátodo mostrado en la Figura 24-5a.

Los productos que se forman en el segundo electrodo representan frecuentemente fuentes potenciales de interferencia. Por ejemplo, la generación anódica de agentes oxidantes se acompaña con frecuencia del desprendimiento de hidrógeno en el cátodo; a menos que se permita el escape de este gas de la disolución, se hace probable su reacción con el agente oxidante. Para eliminar este tipo de dificultad, el segundo electrodo se aísla mediante un disco fritado o algún otro medio poroso.

Una alternativa al aislamiento del electrodo auxiliar es un dispositivo tal como el que se muestra en la Figura 24-10 en el que el reactivo se genera externamente. El aparato está dispuesto de tal

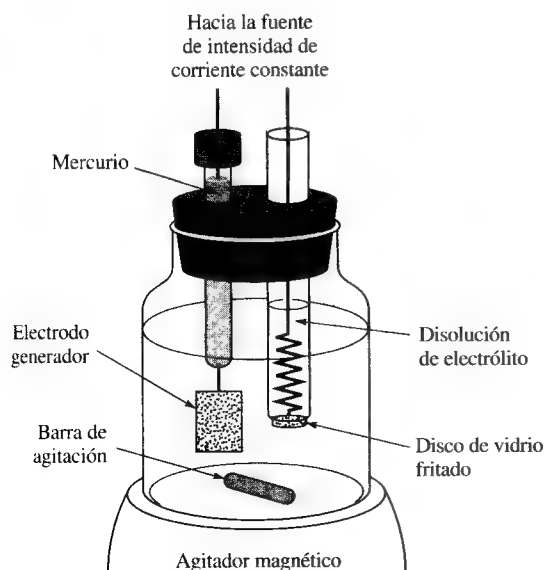


Figura 24-9. Celda típica para valoraciones culombimétricas.

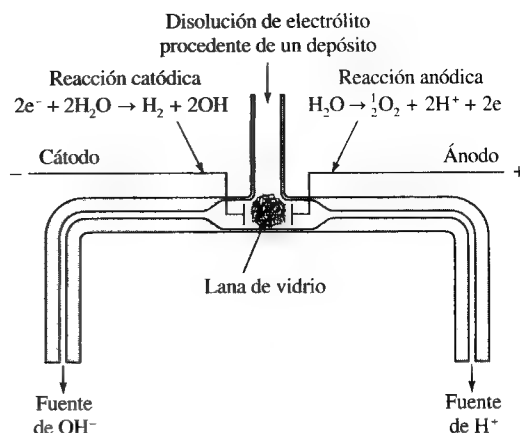


Figura 24-10. Celda para la generación externa de ácido y base.

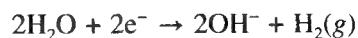
manera que el flujo de electrolito continúa brevemente después de interrumpir la corriente, fluyendo así el reactivo residual al recipiente de la valoración. Obsérvese que el aparato que se muestra en la Figura 24-10 proporciona ya sea iones hidrógeno o hidróxido dependiendo de qué brazo se utilice. El aparato ha sido también utilizado para generar otros reactivos tales como yodo producido por la oxidación de yoduro en el ánodo.

24D-2. Aplicaciones de las valoraciones culombimétricas⁹

Se han desarrollado valoraciones culombimétricas para todos los tipos de reacciones volumétricas. En los siguientes párrafos se describen algunas aplicaciones seleccionadas.

Valoraciones de neutralización

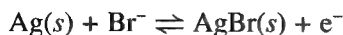
Tanto los ácidos débiles como los fuertes pueden valorarse con un elevado grado de exactitud utilizando iones hidróxido generados en un cátodo mediante la reacción



Se pueden utilizar las celdas que se muestran en las Figuras 24-9 y 24-10. Una alternativa ade-

⁹ Las aplicaciones del procedimiento culombimétrico están resumidas por E. Bishop, en *Comprehensive Analytical Chemistry*, C. L. Wilson y D. W. Wilson, Eds., Vol. IID, Capítulos XVIII-XXIV. New York: Elsevier, 1975.

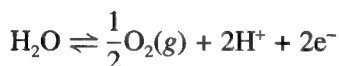
cuada supone la colocación de un alambre de plata como ánodo y la adición de iones cloruro o bromuro a la disolución del analito. La reacción en el ánodo es entonces



Naturalmente, el bromuro de plata no interfiere con la reacción de neutralización como lo harían los iones hidrógeno que se forman en la mayoría de los ánodos.

Para estas valoraciones pueden utilizarse tanto determinaciones potenciométricas de los puntos finales, como indicadores. Los problemas asociados con la estimación del punto de equivalencia son idénticos a los encontrados en el análisis volumétrico convencional. Sin embargo, una ventaja real del método culombimétrico es que la interferencia por el ion carbonato es bastante menos dificultosa; sólo es necesario eliminar el dióxido de carbono de la disolución que contiene al analito, por desaireación con gas libre de dióxido de carbono, antes de empezar el análisis.

La valoración culombimétrica de bases fuertes y débiles se puede llevar a cabo con iones hidrógeno generados en un ánodo de platino.

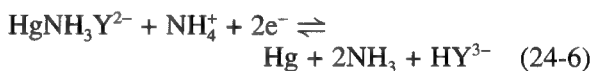


En este caso, el cátodo debe aislarse de la disolución o debe utilizarse la generación externa para evitar la interferencia por parte de los iones hidróxido producidos en aquel electrodo.

Valoraciones de precipitación y de formación de complejos

Se han desarrollado una gran variedad de valoraciones culombimétricas que utilizan iones plata generados anódicamente (véase Tabla 24-1). Puede utilizarse una celda, tal como la mostrada en la Figura 24-9 con un electrodo construido a partir de un alambre grueso de plata de cierta longitud. Los puntos finales se detectan potenciométricamente o con indicadores químicos. Se han descrito análisis similares, basados en la generación de ion mercurio(I) en un ánodo de mercurio.

Una de las valoraciones culombimétricas interesantes es la que utiliza una disolución del complejo aminado de mercurio(II) del ácido etilendiamino tetracético (H_4Y)¹⁰. El agente complejante es liberado en la disolución como consecuencia de la siguiente reacción en el cátodo de mercurio:



Debido a que el quelato de mercurio es más estable que los correspondientes complejos con calcio, cinc, plomo o cobre, la complejación de estos iones no tendrá lugar hasta que el proceso electroquímico libere el ligando.

Valoraciones de oxidación/reducción

La Tabla 24-2 indica la variedad de reactivos que pueden generarse culombimétricamente y los aná-

¹⁰ C. N. Reilley y W. W. Portefield, *Anal. Chem.*, **1956**, 28, 443.

TABLA 24-1. Resumen de las aplicaciones de las valoraciones culombimétricas que implican reacciones de neutralización, precipitación y formación de complejos

Especies a determinar	Reacción en el electrodo generador	Reacción analítica secundaria
Ácidos	$2\text{H}_2\text{O} + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{OH}^- + \text{H}_2$	$\text{OH}^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}$
Bases	$\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons 2\text{H}^+ + \frac{1}{2}\text{O}_2 + 2e^-$	$\text{H}^+ + \text{OH}^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}$
Cl^- , Br^- , I^-	$\text{Ag} \rightleftharpoons \text{Ag}^+ + e^-$	$\text{Ag}^+ + \text{Cl}^- \rightleftharpoons \text{AgCl}(s)$, etc.
Mercaptanos	$\text{Ag} \rightleftharpoons \text{Ag}^+ + e^-$	$\text{Ag}^+ + \text{RSH} \rightleftharpoons \text{AgSR}(s) + \text{H}^+$
Cl^- , Br^- , I^-	$2\text{Hg} \rightleftharpoons \text{Hg}_2^{2+} + 2e^-$	$\text{Hg}_2^{2+} + 2\text{Cl}^- \rightleftharpoons \text{Hg}_2\text{Cl}_2(s)$, etc.
Zn^{2+}	$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} + e^- \rightleftharpoons \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$	$3\text{Zn}^{2+} + 2\text{K}^+ + 2\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-} \rightleftharpoons \text{K}_2\text{Zn}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2(s)$
Ca^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} y Pb^{2+}	Véase Ecuación 24-6	$\text{HY}^{3-} + \text{Ca}^{2+} \rightleftharpoons \text{CaY}^{2-} + \text{H}^+$, etc.

TABLA 24-2. Resumen de las aplicaciones de las valoraciones culombimétricas que implican reacciones de oxidación/reducción

Reactivo	Reacción en el electrodo generador	Sustancias a determinar
Br ₂	$2\text{Br}^- \rightleftharpoons \text{Br}_2 + 2\text{e}^-$	As(III), Sb(III), U(IV), Ti(I), I ⁻ , SCN ⁻ , NH ₃ , N ₂ H ₄ , NH ₂ OH, fenol, anilina, gas mostaza; 8-hidroquinolina
Cl ₂	$2\text{Cl}^- \rightleftharpoons \text{Cl}_2 + 2\text{e}^-$	As(III), I ⁻
I ₂	$2\text{I}^- \rightleftharpoons \text{I}_2 + 2\text{e}^-$	As(III), Sb(III), S ₂ O ₃ ²⁻ , H ₂ S
Ce ⁴⁺	$\text{Ce}^{3+} \rightleftharpoons \text{Ce}^{4+} + \text{e}^-$	Fe(II), Ti(III), U(IV), As(III), I ⁻ , Fe(CN) ₆ ⁴⁻
Mn ³⁺	$\text{Mn}^{2+} \rightleftharpoons \text{Mn}^{3+} + \text{e}^-$	H ₂ C ₂ O ₄ , Fe(II), As(III)
Ag ²⁺	$\text{Ag}^+ \rightleftharpoons \text{Ag}^{2+} + \text{e}^-$	Ce(III), V(IV), H ₂ C ₂ O ₄ , As(III)
Fe ²⁺	$\text{Fe}^{3+} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+}$	Cr(VI), Mn(VII), V(V), Ce(IV)
Ti ³⁺	$\text{TiO}^{2+} + 2\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ti}^{3+} + \text{H}_2\text{O}$	Fe(III), V(V), Ce(IV), U(VI)
CuCl ₃ ²⁻	$\text{Cu}^{2+} + 3\text{Cl}^- + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{CuCl}_3^{2-}$	V(V), Cr(VI), IO ₃ ⁻
U ⁴⁺	$\text{UO}_2^{2+} + 4\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{U}^{4+} + 2\text{H}_2\text{O}$	Cr(VI), Ce(IV)

lisis en los que se han empleado. Entre los agentes oxidantes, el bromo electrogenerado ha demostrado ser particularmente útil siendo la base de una multitud de métodos. Son también de interés algunos reactivos poco corrientes que no se utilizan normalmente en análisis volumétrico debido a la inestabilidad de sus disoluciones; éstos incluyen el ion plata divalente, el manganeso trivalente y el complejo de cloruro con el cobre monovalente.

Comparación de las valoraciones culombimétricas y volumétricas

Es interesante señalar varias analogías entre los métodos e instrumentos culombimétricos y volumétricos. Ambos requieren un punto final observable y en consecuencia están sujetos a errores de valoración. Además, en ambas técnicas, la cantidad de analito se determina evaluando su capacidad de combinación, en un caso, con una disolución patrón, y en el otro, con los electrones. Las reacciones también deben cumplir los mismos requisitos; esto es, deben ser rápidas, prácticamente completas y libres de reacciones secundarias. Finalmente, existe una estrecha analogía entre los diversos componentes del instrumento mostrado en la Figura 24-8 y el instrumento y las disoluciones empleadas en un análisis volumétrico convencional. La fuente de intensidad de corriente constante y conocida tiene la misma función que la disolución patrón en un

método volumétrico. El reloj y el interruptor se corresponden exactamente con la bureta, el interruptor desempeña la misma función que la llave de cierre. Durante las primeras etapas de una valoración culombimétrica, el interruptor se mantiene cerrado durante períodos largos; sin embargo, cuando se aproxima el punto final, se llevan a cabo pequeñas adiciones del «reactivo» cerrando el interruptor durante intervalos cada vez más cortos. La similitud con la manera de utilizar una bureta es obvia.

Se puede afirmar que las valoraciones culombimétricas presentan algunas ventajas reales en comparación con los procesos volumétricos clásicos. La más importante entre ellas es la eliminación de los problemas asociados con la preparación, estandarización, y almacenamiento de las disoluciones patrón. Esta ventaja es particularmente importante con reactivos lábiles tales como el cloro, el bromo o el ion titanio(III); debido a su inestabilidad, estas especies no son adecuadas como reactivos volumétricos. Sin embargo, su utilización en análisis culombimétrico es directa, ya que reaccionan con el analito inmediatamente después de ser generados.

Cuando se requieren pequeñas cantidades de reactivo, las valoraciones culombimétricas ofrecen una considerable ventaja. Si se elige adecuadamente la intensidad de corriente se pueden introducir microcantidades de una sustancia con facilidad y exactitud; el proceso volumétrico equivalente re-

quiere pequeños volúmenes de disoluciones muy diluidas, un recurso siempre difícil.

Se puede utilizar una fuente de intensidad constante para generar reactivos de precipitación, de formación de complejos, de óxido/reducción, o de neutralización. Además el método coulombimétrico se adapta fácilmente a las valoraciones automáticas, ya que el control de la intensidad de corriente se consigue fácilmente.

Las valoraciones coulombimétricas están sujetas a cinco fuentes de error: (1) variación de la intensidad de corriente durante la electrólisis, (2) desviación del proceso del 100 por 100 de eficacia en la corriente, (3) error en la medida de la intensidad de corriente, (4) error en la medida del tiempo, y (5) error de valoración debido a la diferencia entre el punto de equivalencia y el punto final. La última de estas limitaciones es común también a los métodos volumétricos; cuando el factor limitante es el error de indicador, los dos métodos tienen probablemente una exactitud comparable.

Con instrumentación sencilla, se pueden alcanzar fácilmente intensidades de corriente constantes dentro de un 0,2 por 100 relativo. Con aparatos algo más sofisticados, puede obtenerse un control hasta del 0,01 por 100. Por lo que, en general, los errores debidos a fluctuaciones en la corriente rara vez son de importancia.

A pesar de que son difíciles las generalizaciones respecto a la magnitud de la incertidumbre asociada con el proceso electrolítico, aparecen a menudo en la bibliografía eficacias de la intensidad de corriente del 99,5 por 100 y hasta superiores a un

99,9 por 100. Las intensidades de corriente se miden fácilmente hasta un $\pm 0,1$ por 100 relativo.

Entonces, para resumir, las medidas intensidad-tiempo requeridas para una valoración coulombimétrica son inherentemente tan o más exactas que las medidas comparables de volumen-molaridad en un análisis volumétrico clásico, en particular cuando están implicadas pequeñas cantidades de reactivo. A menudo, sin embargo, la exactitud de una valoración no viene limitada por estas medidas, sino por la sensibilidad del punto final; respecto a esto los dos procedimientos son equivalentes.

24D-3. Valoraciones coulombimétricas automáticas

Varios fabricantes ofrecen valoradores coulombimétricos automáticos. La mayoría utiliza el punto final potenciométrico. Algunos de los instrumentos comerciales son multiuso y pueden utilizarse para la determinación de una variedad de especies. Otros están diseñados para un único tipo de análisis. Ejemplos de este último lo constituyen: valoradores de cloruro en los que el ion plata se genera coulombimétricamente; sistemas de control del dióxido de azufre, en donde el bromo generado anódicamente oxida al analito a iones sulfato; los sistemas de control del dióxido de carbono, en los cuales el gas absorbido en monoetanolamina, se valora con una base generada coulombimétricamente; y valoradores de agua en los que el reactivo de Karl Fischer se genera electroquímicamente.

24E. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 24-1.** Se deposita en el cátodo el plomo de una disolución 0,125 M en Pb^{2+} y 0,250 M en HClO_4 . Se desprende oxígeno a una presión de 0,800 atm en el ánodo de platino de 30 cm^2 . La celda tiene una resistencia de 0,950 Ω .
- Calcular el potencial termodinámico de la celda.
 - Calcular la caída IR si se va a utilizar una intensidad de corriente de 0,300 A.
 - Estimar el potencial total que se necesita aplicar para iniciar la electrodeposición en las condiciones especificadas.
 - ¿Qué potencial se necesitará cuando la concentración de Pb^{2+} sea 0,00100 M, suponiendo que el resto de las variables permanecen inalteradas?
- 24-2.** Calcular la diferencia mínima en los potenciales estándar de electrodo necesaria para disminuir la concentración del metal M_1 hasta $1,00 \times 10^{-4}$ M en una disolución que es $2,00 \times 10^{-1}$ M en el metal menos reducible M_2 donde
- M_2 es monovalente y M_1 es divalente.

- (b) M_2 y M_1 son ambos divalentes.
- (c) M_2 es trivalente y M_1 es monovalente.
- (d) M_2 es divalente y M_1 es monovalente.
- (e) M_2 es divalente y M_1 es trivalente.

24-3. Se desea separar y determinar bismuto, cobre y plata en una disolución que es 0,0650 M en BiO^+ ; 0,175 M en Cu^{2+} ; 0,0962 M en Ag^+ y 0,500 M en HClO_4 .

- (a) Utilizando $1,00 \times 10^{-6}$ M como criterio de separación cuantitativa, determinar si es o no factible la separación de las tres especies por electrólisis a potencial del cátodo controlado.
- (b) Si algunas separaciones son factibles, evaluar el intervalo (vs. ECS) dentro del que se deberá controlar el potencial del cátodo para la deposición de cada una.
- (c) Calcular el potencial (vs. ECS) necesario para depositar cuantitativamente el tercer ion.

24-4. Los iones haluro se pueden depositar en un ánodo de plata, siendo la reacción



Suponer que la celda se formó sumergiendo un ánodo de plata en una disolución del analito que era 0,0250 M en iones Cl^- , Br^- y I^- , y conectando la semi-celda a un cátodo de calomelanos saturado por medio de un puente salino.

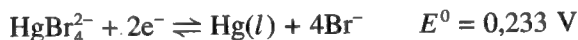
- (a) ¿Qué haluro se formará primero y a qué potencial? ¿Es la celda galvánica o electrolítica?
- (b) ¿Pueden el I^- y el Br^- separarse cuantitativamente? (Tómese $1,00 \times 10^{-5}$ M como criterio para la separación cuantitativa de un ion.) Si la separación es factible, qué intervalo de potenciales de celda podría utilizarse?
- (c) Repita la parte (b) para I^- y Cl^- .
- (d) Repita la parte (b) para Br^- y Cl^- .

24-5. ¿Qué potencial del cátodo (vs. ECS) se necesitaría para disminuir la concentración total de Hg(II) de las siguientes disoluciones hasta $1,00 \times 10^{-6}$ M? (supóngase que el producto de reacción es en cada uno de los casos Hg elemental):

- (a) ¿una disolución acuosa de Hg^{2+} ?
- (b) ¿una disolución con una concentración de SCN^- en el equilibrio de 0,100 M?



- (c) ¿una disolución con una concentración de Br^- en el equilibrio de 0,250 M?



24-6. Calcular el tiempo que se requiere aplicar una corriente constante de 0,800 A para depositar 0,100 g de

- (a) Tl(III) como elemento sobre un cátodo.
- (b) Tl(I) como Tl_2O_3 sobre un ánodo.
- (c) Tl(I) como elemento sobre un cátodo.

24-7. A un potencial de -1,0 V (vs. ECS), el tetracloruro de carbono en metanol se redujo a cloroformo en un cátodo de Hg:



A -1,80 V, el cloroformo reacciona a continuación para dar metano:



0,750 g de una muestra que contenía CCl_4 , CHCl_3 y especies orgánicas inertes se disolvió en metanol y se electrolizó a $-1,0$ V hasta que la corriente se aproximó a cero. Un culombímetro indicó que se habían utilizado 11,63 C. Después se continuó la reducción a $-1,80$ V; se necesitaron 68,6 C adicionales para completar la reacción. Calcular el porcentaje de CCl_4 y CHCl_3 en la mezcla.

- 24-8.** Una muestra de 6,39 g de una preparación para el control de hormigas se descompuso por digestión por vía húmeda con H_2SO_4 y HNO_3 . El arsénico del residuo se redujo al estado trivalente con hidrazina. Después de haber eliminado el exceso de agente reductor, el arsénico(III) se oxidó con I_2 generado electrolíticamente *en un medio ligeramente alcalino*:

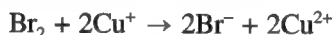


La valoración se completó después de que hubo pasado una intensidad de corriente de 101,1 mA durante 12 minutos y 36 s. Expresar los resultados de este análisis en términos del porcentaje de As_2O_3 en la muestra original.

- 24-9.** Una muestra de 0,0809 g de un ácido orgánico purificado se disolvió en una mezcla de alcohol/agua y se valoró con iones hidróxido generados culombimétricamente. Con una intensidad de corriente de 0,0324 A, se necesitaron 251 s para alcanzar el punto final indicado con fenoltaleína. Calcular el peso equivalente del ácido.
- 24-10.** Se pueden determinar trazas de anilina por reacción con un exceso de Br_2 generado electrolíticamente:

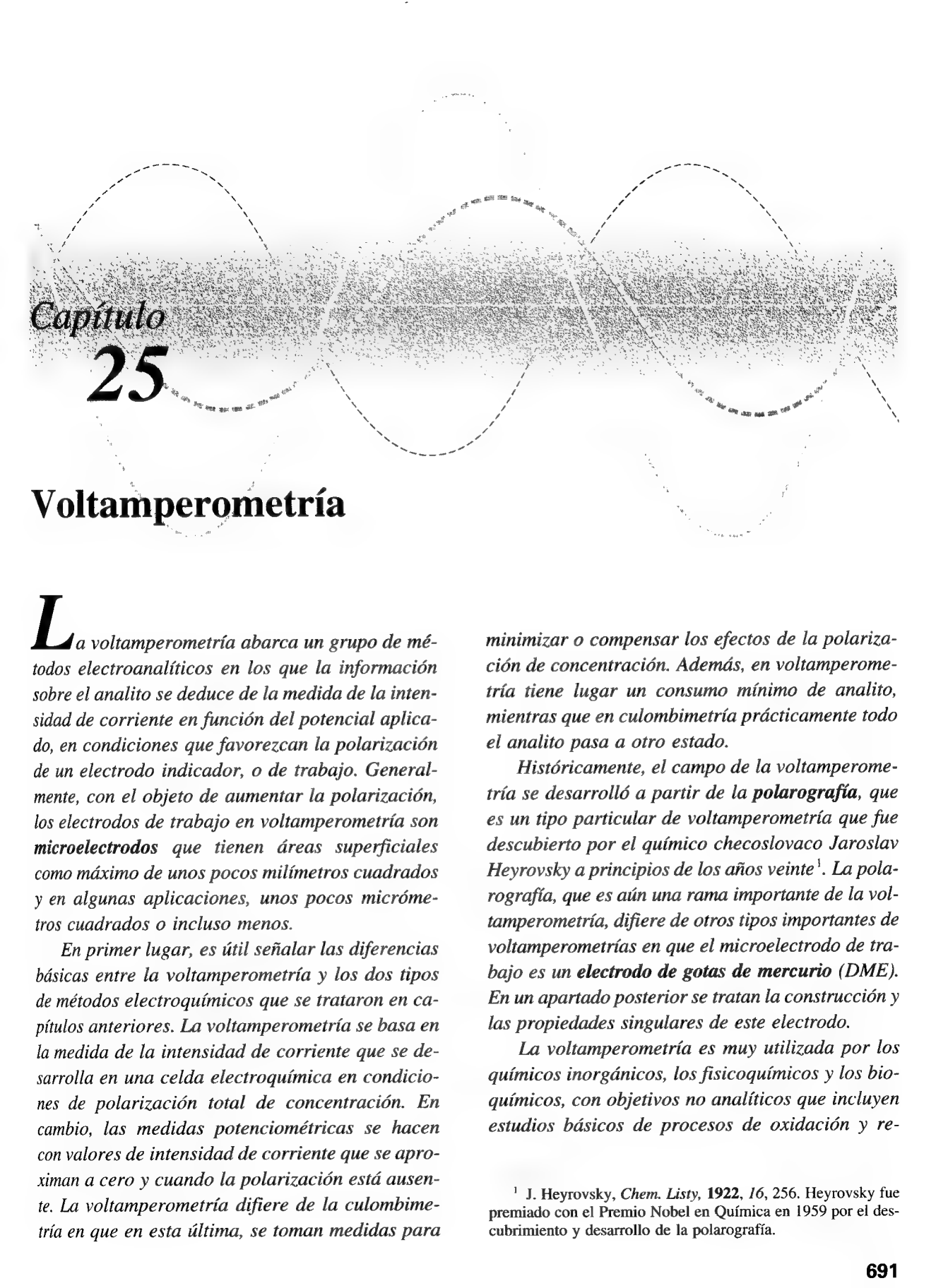


Se invirtió entonces la polaridad del electrodo de trabajo, y el exceso de bromo se determinó mediante una valoración culombimétrica que implicaba la generación de Cu(I) :



Se añadieron cantidades adecuadas de KBr y sulfato de cobre(II) a 25 mL de una muestra que contenía anilina. Calcular los microgramos de $\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$ en la muestra a partir de los siguientes datos:

Electrodo de trabajo funciona como	Tiempo de generación (min) con una intensidad de corriente constante de 1,00 mA
Ánodo	3,76
Cátodo	0,270



Capítulo 25

Voltamperometría

La voltamperometría abarca un grupo de métodos electroanalíticos en los que la información sobre el analito se deduce de la medida de la intensidad de corriente en función del potencial aplicado, en condiciones que favorezcan la polarización de un electrodo indicador, o de trabajo. Generalmente, con el objeto de aumentar la polarización, los electrodos de trabajo en voltamperometría son **microelectrodos** que tienen áreas superficiales como máximo de unos pocos milímetros cuadrados y en algunas aplicaciones, unos pocos micrómetros cuadrados o incluso menos.

En primer lugar, es útil señalar las diferencias básicas entre la voltamperometría y los dos tipos de métodos electroquímicos que se trataron en capítulos anteriores. La voltamperometría se basa en la medida de la intensidad de corriente que se desarrolla en una celda electroquímica en condiciones de polarización total de concentración. En cambio, las medidas potenciométricas se hacen con valores de intensidad de corriente que se aproximan a cero y cuando la polarización está ausente. La voltamperometría difiere de la coulombimetría en que en esta última, se toman medidas para

minimizar o compensar los efectos de la polarización de concentración. Además, en voltamperometría tiene lugar un consumo mínimo de analito, mientras que en coulombimetría prácticamente todo el analito pasa a otro estado.

Históricamente, el campo de la voltamperometría se desarrolló a partir de la **polarografía**, que es un tipo particular de voltamperometría que fue descubierto por el químico checoslovaco Jaroslav Heyrovsky a principios de los años veinte¹. La polarografía, que es aún una rama importante de la voltamperometría, difiere de otros tipos importantes de voltamperometrías en que el microelectrodo de trabajo es un **electrodo de gotas de mercurio** (DME). En un apartado posterior se tratan la construcción y las propiedades singulares de este electrodo.

La voltamperometría es muy utilizada por los químicos inorgánicos, los fisicoquímicos y los bioquímicos, con objetivos no analíticos que incluyen estudios básicos de procesos de oxidación y re-

¹ J. Heyrovsky, *Chem. Listy*, **1922**, 16, 256. Heyrovsky fue premiado con el Premio Nobel en Química en 1959 por el descubrimiento y desarrollo de la polarografía.

ducción en diferentes medios, procesos de adsorción sobre superficies y mecanismos de transferencia de electrones en superficies de electrodos químicamente modificadas. Hace algunos años, la voltamperometría (en particular la polarografía clásica) era una herramienta importante para los químicos que la utilizaban para la determinación de iones inorgánicos y de algunas especies orgánicas en disoluciones acuosas. Sin embargo, a finales de los años cincuenta y principios de los años sesenta, en muchas de estas aplicaciones analíticas fueron sustituidas por diversos métodos espectroscópicos, y la voltamperometría dejó de ser un método importante de análisis, excepto para algunas aplicaciones especiales, tales como la determinación del oxígeno molecular en las disoluciones.

A mediados de los años sesenta, se desarrollaron diversas modificaciones importantes de las técnicas voltamperométricas clásicas que aumentaron significativamente la sensibilidad y la selectividad del método. Al mismo tiempo, el advenimiento de los amplificadores operacionales de bajo coste, hizo posible el desarrollo comercial de instrumentos relativamente baratos que incorporaban muchas de estas modificaciones y los hacían asequibles a todos los químicos. El resultado ha sido el reciente resurgir del interés en la aplicación de los métodos voltamperométricos para la determinación de una multitud de especies, en particular de aquellas de interés farmacéutico, ambiental y biológico². Además, la voltamperometría acoplada con la cromatografía de alta eficacia se ha convertido en una poderosa herramienta para el análisis de muestras complejas de diferentes tipos. La voltamperometría moderna continúa siendo también una poderosa herramienta utilizada por diferentes químicos interesados en el estudio de procesos de oxidación y reducción, así como en los procesos de adsorción³.

² Para un breve resumen de varias de estas técnicas voltamperométricas modificadas, véase J. B. Flato, *Anal. Chem.*, **1972**, *44*, 75A.

³ Entre algunas referencias generales que tratan la voltamperometría se incluyen *Analytical Voltammetry*, M. R. Smyth y F. G. Vos, Eds. New York: Elsevier, 1992; A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*. New York: Wiley, 1980; *Laboratory Techniques in Electroanalytical Techniques*, 2.ª ed.

25A. SEÑALES DE EXCITACIÓN EN VOLTAMPEROMETRÍA

En voltamperometría, se aplica a una celda electroquímica, que contiene un microelectrodo, una *señal de excitación* que es un potencial variable. Esta señal de excitación provoca una respuesta de intensidad de corriente característica en la que se basa el método. En la Figura 25-1 se muestran las formas de cuatro señales de excitación comúnmente utilizadas en voltamperometría. La señal de excitación clásica en voltamperometría es el barrido lineal que se muestra en la Figura 25-1a, en la que el potencial de corriente continua aplicado a la celda aumenta linealmente (normalmente en el intervalo de 2 a 3 V) en función del tiempo. La intensidad de corriente que se desarrolla en la celda se registra entonces en función del tiempo (y, por tanto, en función del potencial aplicado).

En las Figuras 25-1b y 25-1c se muestran dos señales de excitación de impulsos. Las intensidades de corriente se miden en diferentes momentos durante la vida de estos impulsos. Con la onda de forma triangular que se muestra en la Figura 25-1d, el potencial varía de forma cíclica entre dos valores, primero aumenta linealmente hasta un máximo y después disminuye linealmente con una pendiente del mismo valor numérico hasta su valor original. Este proceso se puede repetir numerosas veces, registrándose la intensidad de corriente en función del tiempo. Un ciclo completo puede durar 100 segundos o más, o completarse en menos de un segundo.

En la última columna de la Figura 25-1 se indican los tipos de voltamperometrías que utilizan las diversas señales de excitación. Estas técnicas se tratan en los siguientes apartados.

25B. INSTRUMENTACIÓN EN VOLTAMPEROMETRÍA

La Figura 25-2 es un esquema que muestra los componentes de un instrumento moderno que permite efectuar medidas voltamperométricas de barrido lineal. La celda consta de tres electrodos sumergidos en una disolución que contiene el analito y también un exceso de un electrólito no reactivo

Figura 25-1. Señales de potencial de excitación utilizadas en voltamperometría.

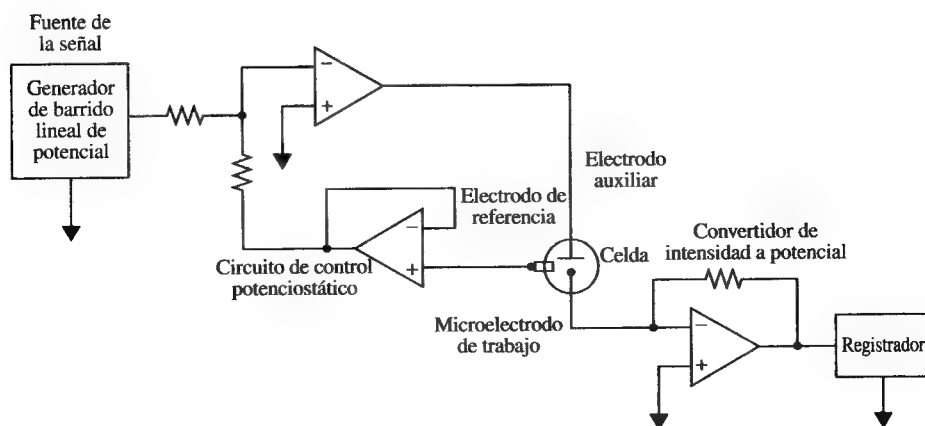
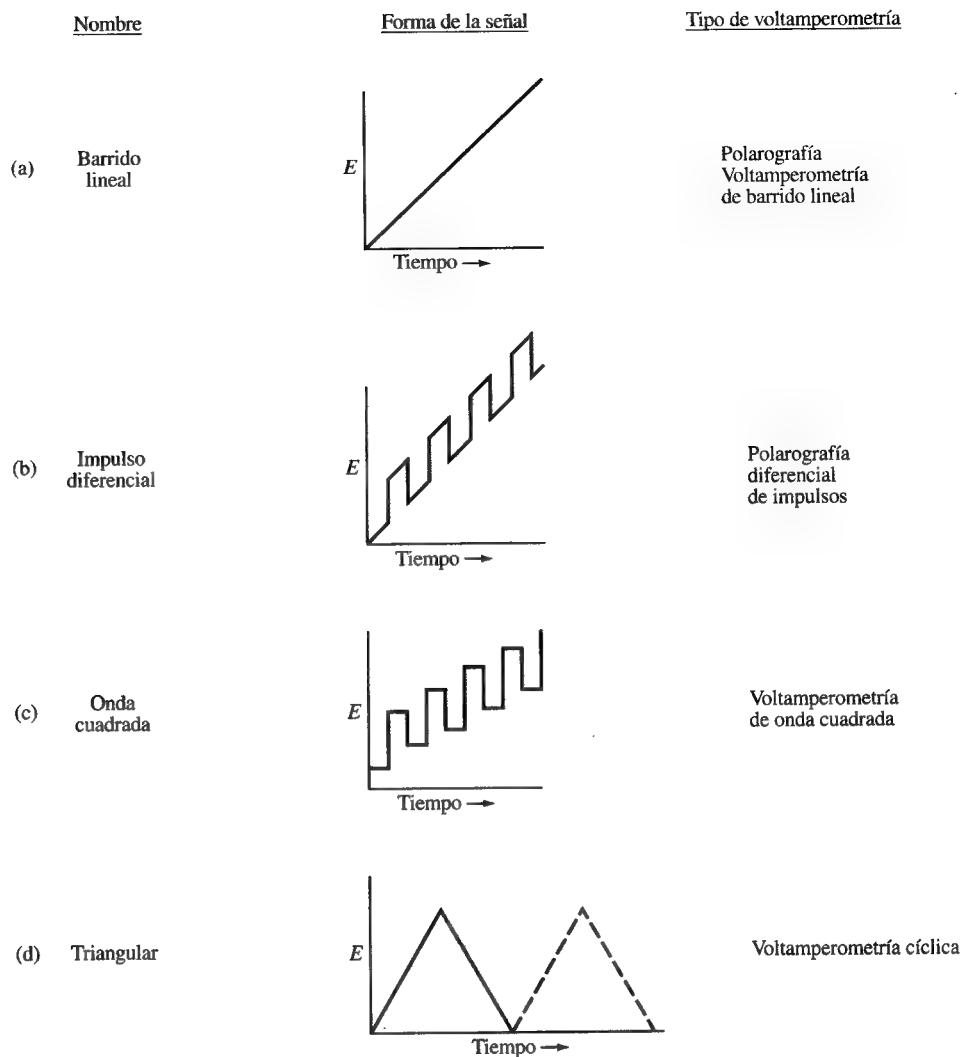


Figura 25-2. Sistema para voltamperometría potenciostática de barrido lineal con tres electrodos.

llamado *electrólito soporte*. Uno de los electrodos es el microelectrodo, o *electrodo de trabajo*, cuyo potencial se varía linealmente con el tiempo. Sus dimensiones son de tamaño reducido con el objeto de exaltar su tendencia a ser polarizado. El segundo electrodo es un electrodo de referencia (normalmente uno de calomelanos saturado o de plata/cloruro de plata) cuyo potencial permanece constante durante el experimento. El tercer electrodo es un *electrodo auxiliar*, que normalmente es una espiral de alambre de platino o una piscina de mercurio, que sirve simplemente para conducir la electricidad desde la fuente de la señal a través de la disolución al microelectrodo.

La fuente de la señal es un generador de potencial de barrido lineal similar al circuito de integración que se muestra en la Figura 3-14c (página 68). La salida de este tipo de fuente se describe por la Ecuación 3-20. Así, para un potencial de entrada continuo y constante E_p , el potencial de salida E_0 viene dado por

$$E_0 = -\frac{E_i}{R_i C_f} \int_0^t dt = -\frac{E_i}{R_i C_f} t \quad (25-1)$$

La señal de salida de la fuente alimenta un circuito potencioestático similar al que se muestra en la Figura 24-6c. La resistencia eléctrica del circuito de control que contiene el electrodo de referencia es tan grande ($>10^{11} \Omega$) que prácticamente no pasa corriente por él. Por tanto, la corriente de la fuente circula desde el electrodo auxiliar al microelectrodo. Por otro lado, el circuito de control ajusta esta corriente de manera que el potencial entre el microelectrodo y el electrodo de referencia sea idéntico al potencial de salida del generador de potencial de barrido lineal. La intensidad de corriente resultante se convierte entonces en un potencial y es registrada en función del tiempo, y es directamente proporcional al potencial entre el par microelectrodo/referencia⁴. Es importante resaltar que la

variable independiente en estas medidas es el potencial del *microelectrodo* frente al electrodo de referencia y no el potencial entre el microelectrodo y el electrodo auxiliar. El electrodo de trabajo está a un potencial virtual común durante el curso de la medida.

25B-1. Microelectrodos⁵

Los microelectrodos utilizados en voltamperometría tienen una variedad de configuraciones y formas. A menudo, son pequeños discos planos de un conductor montados a presión en unas varillas de material inerte como Teflón o Kel-F que llevan incorporado un alambre de contacto (véase Fig. 25-3a). El conductor puede ser un metal inerte, como platino u oro; grafito pirolítico o carbón vítreo; un semiconductor como estaño u óxido de indio; o un metal recubierto con una película de mercurio. Tal como se muestra en la Figura 25-4, el intervalo de potenciales en el que estos electrodos pueden ser utilizados en disoluciones acuosas varía y depende no sólo del material del electrodo, sino también de la composición de la disolución en la que está sumergido. Generalmente, las limitaciones de los potenciales positivos están provocadas por las elevadas intensidades de corriente que se desarrollan debido a la oxidación del agua para dar oxígeno molecular. Los límites negativos son debidos a la reducción del agua dando hidrógeno. Obsérvese que pueden tolerarse potenciales negativos relativamente elevados con los electrodos de mercurio debido al elevado sobrepotencial del hidrógeno en este metal.

Los microelectrodos de mercurio han sido ampliamente utilizados en voltamperometría por di-

potencial aplicado y el potencial del segundo electrodo. Con disoluciones de elevada resistencia eléctrica, sin embargo, esta suposición no es válida, ya que la caída IR se hace importante y aumenta a medida que la intensidad de corriente aumenta. La consecuencia es que se obtienen voltamperogramas distorsionados. Actualmente casi todas las voltamperometrías se llevan a cabo con sistemas de tres electrodos.

⁵ La mayor parte de este capítulo tratará de medidas voltamperométricas con microelectrodos de trabajo que tienen dimensiones del orden de los milímetros. Desde finales de los años setenta, sin embargo, ha crecido el interés en los estudios con electrodos con dimensiones del orden de los micrometros. Tales electrodos se denominan *ultramicroelectrodos* o *electrodos microscópicos*. Dichos electrodos ofrecen varias ventajas sobre los microelectrodos clásicos. Se describirán varias características únicas de los ultramicroelectrodos en el Apartado 25G.

⁴ Al principio la voltamperometría se llevó a cabo con un sistema de dos electrodos en vez del sistema de tres electrodos mostrado en la Figura 25-2. Con un sistema de dos electrodos, el segundo electrodo es un electrodo grande metálico, tal como un depósito de mercurio, o un electrodo de referencia suficientemente grande como para impedir su polarización durante la medida. Este segundo electrodo combina las funciones del electrodo de referencia y del electrodo auxiliar en la Figura 25-2. En este caso se supone que el potencial del segundo electrodo se mantiene constante durante un barrido, de manera que el potencial del microelectrodo es simplemente la diferencia entre el

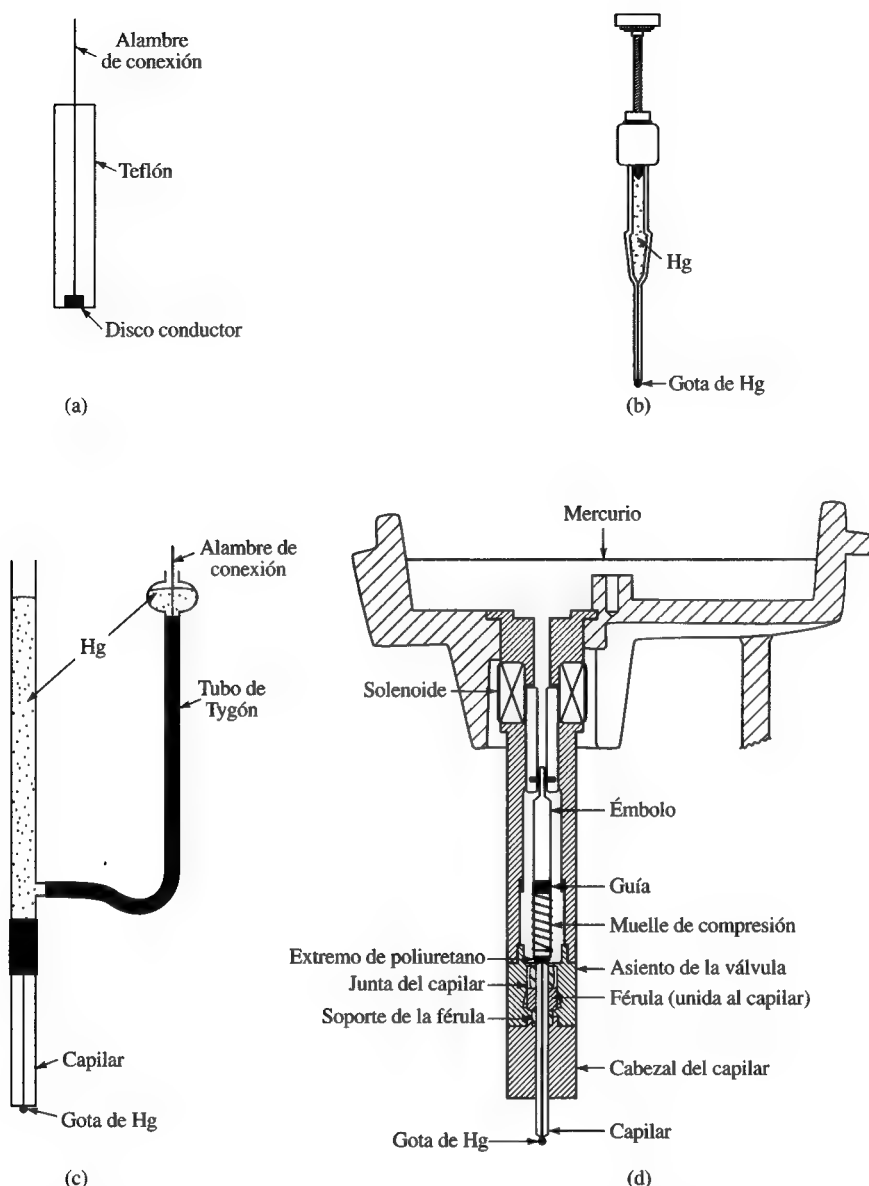


Figura 25-3. Algunos tipos comunes de microelectrodos: (a) electrodo de disco, (b) electrodo de gota colgante de mercurio, (c) electrodo de gotas de mercurio, (d) electrodo de gota estática de mercurio.

versas razones. Una de ellas es el intervalo de potenciales negativos relativamente elevado antes descrito. Además, es fácil formar una superficie metálica limpia produciendo simplemente una nueva gota. La posibilidad de obtener fácilmente una superficie nueva es importante, ya que las intensidades de corriente medidas en voltamperometría son bastante sensibles a la limpieza y a que

estén libres de irregularidades. Una ventaja adicional de los electrodos de mercurio es que numerosos iones metálicos se reducen reversiblemente a amalgamas en la superficie de un electrodo de mercurio, lo que simplifica la química del proceso. Los microelectrodos de mercurio tienen diferentes formas. La más simple es un electrodo de película de mercurio formado por electrodeposición del metal

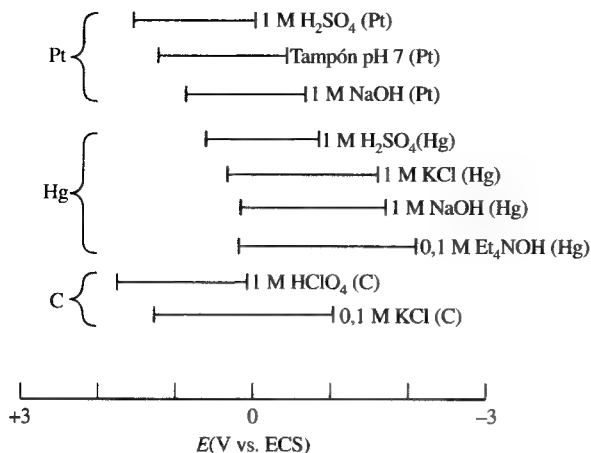


Figura 25-4. Intervalos de potencial para tres tipos de electrodos en diversos electrolitos soporte.

sobre un electrodo de disco, tal como se muestra en la Figura 25-3a. La Figura 25-3b ilustra un *electrodo de gota colgante de mercurio* (HMDE). El electrodo, que está disponible de fuentes comerciales, consiste en un tubo capilar muy delgado conectado a un depósito que contiene mercurio. El metal es forzado a salir del capilar mediante un émbolo movido por un tornillo micrométrico. El tornillo micrométrico permite la formación de gotas cuyas áreas superficiales son reproducibles con un error del 5 por 100 o inferior.

La Figura 25-3c muestra un *electrodo de gotas de mercurio* típico (DME), que se utilizó en casi todas las mediciones polarográficas iniciales. Consiste en un tubo capilar fino de aproximadamente 10 cm (d.i. $\approx 0,05$ mm) a través del cual se fuerza a salir al mercurio mediante una columna de mercurio de quizás unos 50 cm de altura. El diámetro del capilar es tal que se forma una nueva gota cada 2 a 6 s. El diámetro de la gota es de 0,5 a 1 mm y es muy reproducible. En algunas aplicaciones, el tiempo de la gota se controla con un martillo mecánico que desprende la gota a un tiempo determinado después de que empieza a formarse.

La Figura 25-3d muestra un electrodo de mercurio disponible comercialmente que puede operar como electrodo de gotas de mercurio y como electrodo de gota colgante. El mercurio está contenido en un depósito revestido de plástico situado unos 25 cm por encima del extremo superior del capilar. Un muelle aprieta al émbolo, que acaba en una punta de poliuretano, contra la cabeza del capilar y evita la salida del mercurio. Este émbolo se levanta

activado por el solenoide con una señal del sistema de control. Los capilares tienen un diámetro mucho mayor (0,15 mm) que los típicos. Como resultado la formación de la gota es extremadamente rápida. Después de 50, 100 o 200 ms, la válvula se cierra, dejando una gota del tamaño adecuado hasta que cae por la acción de un martillo mecánico situado en el interior del bloque que soporta el electrodo. Este sistema tiene la ventaja de permitir que se formen rápidamente gotas ya de un tamaño final y que las medidas de corriente se puedan retrasar hasta que la superficie de la gota sea estable y constante. Este procedimiento elimina en gran parte las grandes fluctuaciones de corriente que se encuentran con el electrodo de gotas clásico.

25B-2. Voltamperogramas

La Figura 25-5 ilustra la apariencia de un voltamperograma de barrido lineal típico para una electrólisis que implica la reducción de una especie del analito A para dar un producto P, en un microelectrodo de película de mercurio. En este caso, se supone que el microelectrodo está conectado al polo negativo de un generador de barrido lineal por lo que los potenciales aplicados se dan con signo negativo tal como se muestra. Por convenio, las intensidades de corriente catódicas se tratan siempre

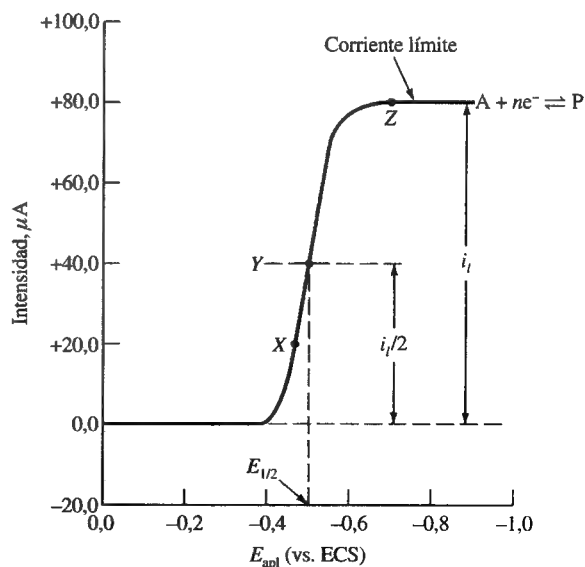
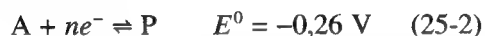


Figura 25-5. Voltamperograma de barrido lineal de la reducción de una especie hipotética A para dar un producto P.

como positivas, mientras que las corrientes anódicas se dan con un signo negativo. En este experimento hipotético, la disolución se supone que es aproximadamente 10^{-4} M en A, 0,0 M en P y 0,1 M en KCl, que sirve como electrólito soporte. La reacción electródica en el microelectrodo es la reacción reversible



Por conveniencia, se suprimen las cargas en A y en P y se supone también que el potencial estándar para la semirreacción es $-0,26$ V.

Los voltamperogramas de barrido lineal adquieren generalmente la forma de una curva sigmoidea llamada *onda voltamperométrica*. La intensidad de corriente constante que aparece después de la pendiente se llama *corriente límite* i_l debido a que se alcanza al ser limitada la velocidad a la cual el reactivo puede llegar a la superficie del electrodo por un proceso de transporte de masa. Las corrientes límite son, generalmente, directamente proporcionales a la concentración de reactante. Por tanto se puede escribir

$$i_l = kc_A$$

donde c_A es la concentración del analito y k es una constante. La voltamperometría de barrido lineal cuantitativa se basa en esta relación.

El potencial al cual la intensidad de corriente es igual a la mitad de la corriente límite se llama *potencial de semionda* y se representa por el símbolo $E_{1/2}$. Después de corregir el potencial de semionda con el potencial del electrodo de referencia (0,242 V para un electrodo de calomelanos saturado) queda muy relacionado con el potencial estándar de la semirreacción, pero normalmente no es idéntico a esta constante. Los potenciales de semionda son a veces útiles para la identificación de los componentes de una disolución.

Con el objetivo de obtener rápidamente corrientes límite reproducibles, es necesario (1) que la disolución o el microelectrodo estén en movimiento continuo y reproducible o (2) que se utilice un electrodo de gotas, tal como el electrodo de gotas de mercurio. La voltamperometría de barrido lineal en la cual la disolución o el electrodo se mantienen en movimiento se llama *voltamperometría hidrodinámica*. La voltamperometría que emplea un electrodo de gotas se llama *polarografía*. Se considerarán ambas.

25C. VOLTAMPEROMETRÍA HIDRODINÁMICA

La voltamperometría hidrodinámica se lleva a cabo de diversas maneras. Uno de los métodos implica una agitación vigorosa de la disolución cuando está en contacto con un microelectrodo fijo. En la Figura 25-6 se representa una cubeta típica para voltamperometría hidrodinámica. En este caso la agitación se consigue con un agitador magnético corriente. De manera alternativa, se hace girar el electrodo a una velocidad elevada y constante dentro de la disolución, produciendo así un efecto de agitación (véase Figura 25-17a). Existe otro modo de llevar a cabo la voltamperometría hidrodinámica que implica hacer fluir la disolución del analito por un tubo en el que se ha montado el microelectrodo (Fig. 25-14). Esta última técnica está siendo ampliamente utilizada para la detección de analitos oxidables o reducibles a medida que salen de una columna en cromatografía de líquidos (Apartado 28C-6).

Como ya se ha descrito en el Apartado 22E-3, durante una electrólisis, el reactante es transportado a la superficie del electrodo mediante tres mecanismos: migración bajo la influencia de un campo

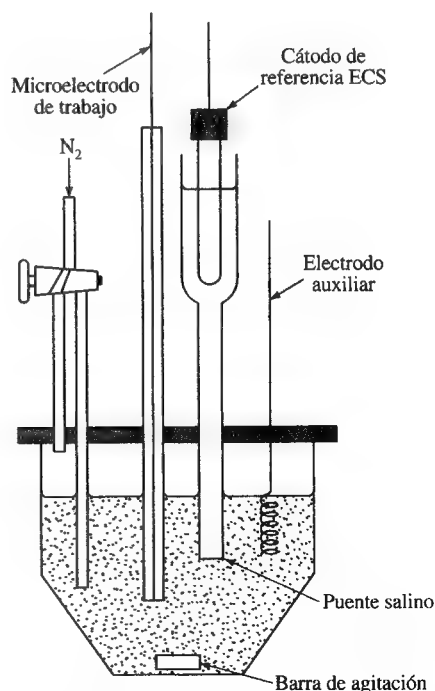


Figura 25-6. Cubeta de tres electrodos para voltamperometría hidrodinámica.

eléctrico, convección como resultado de la agitación o vibración y difusión debido a diferencias de concentración entre la capa de líquido en contacto con la superficie del electrodo y el seno de la disolución. En voltamperometría, todos los esfuerzos tienden a minimizar el efecto de la migración introduciendo un exceso de un electrólito inactivo. Cuando la concentración de electrólito soporte excede la del analito en 50 o 100 veces, la fracción de corriente total transportada por el analito se aproxima a cero. Como resultado, la velocidad de migración del analito hacia el electrodo de carga opuesta es prácticamente independiente del potencial aplicado.

25C-1. Perfiles de concentración en las superficies de los microelectrodos durante la electrólisis

A lo largo de la siguiente discusión consideraremos que la reacción de electrodo que se indica en la Ecuación 25-2 tiene lugar en un microelectrodo recubierto de mercurio y en una disolución de A que contiene también un exceso de electrólito soporte. Se supondrá que la concentración inicial de A es c_A y la de P es cero y que P no es soluble en el mercurio. También se supondrá que la reacción de reducción es rápida y reversible por lo que las concentraciones de A y P en la capa de la disolución inmediatamente adyacente al electrodo vienen dadas en cada momento por la ecuación de Nernst:

$$E_{\text{apl}} = E_A^0 - \frac{0,0592}{n} \log \frac{c_P^0}{c_A^0} - E_{\text{ref}} \quad (25-3)$$

donde E_{apl} es el potencial entre el microelectrodo y el electrodo de referencia y c_P^0 y c_A^0 son las concentraciones molares de P y A en una capa delgada de disolución en la superficie del electrodo. Se supone también que debido a que el electrodo es tan pequeño, la electrólisis, durante cortos períodos de tiempo, no altera apreciablemente la concentración en el seno de la disolución. En consecuencia, la concentración de A en el seno de la disolución c_A no cambia durante la electrólisis y la concentración de P en el seno de la disolución c_P continua siendo cero ($c_P \approx 0$), a todos los efectos.

Perfiles para electrodos planos en disoluciones no agitadas

Antes de describir el comportamiento de un microelectrodo en esta disolución en condiciones hi-

drodinámicas, es instructivo considerar lo que ocurre cuando se aplica un potencial a un electrodo plano, tal como el que se muestra en la Figura 25-3a, en ausencia de convección, esto es, en una disolución sin agitación. En estas condiciones el transporte de masas del analito hacia la superficie del electrodo tiene lugar sólo por difusión.

Se supone que se aplica al microelectrodo un potencial de excitación de onda cuadrada E_{apl} durante un período de τ s tal como se muestra en la Figura 25-7a. Se supone además, que E_{apl} es lo suficientemente elevado como para que la relación c_P^0/c_A^0 en la Ecuación 25-3 sea 1.000 o superior. En estas condiciones, la concentración de A en la superficie del electrodo se reduce, a efectos prácticos, inmediatamente a cero ($c_A^0 \rightarrow 0$). La respuesta de intensidad de corriente a esta señal de excitación en escalón se muestra en la Figura 25-7b. Inicialmente la corriente alcanza un valor máximo que es el que se requiere para convertir prácticamente todo el A de la capa superficial de la disolución en P. La difusión desde el seno de la disolución aporta entonces más A a la capa superficial, donde tiene lugar la reducción. Sin embargo, la intensidad de corriente necesaria para mantener la concentración de A al nivel requerido por la Ecuación 25-3 disminuye rápidamente con el tiempo, debido a que A debe cruzar cada vez mayores distancias para alcanzar la capa superficial, donde se puede reducir. Así, tal como se ve en la Figura 25-7b, la corriente disminuye rápidamente después de su aparición.

La Figura 25-8 muestra los perfiles de concentración para A y para P después de 0, 1, 5 y 10 ms de electrólisis en el sistema en discusión. Las concentraciones de A (líneas continuas) y de P (líneas

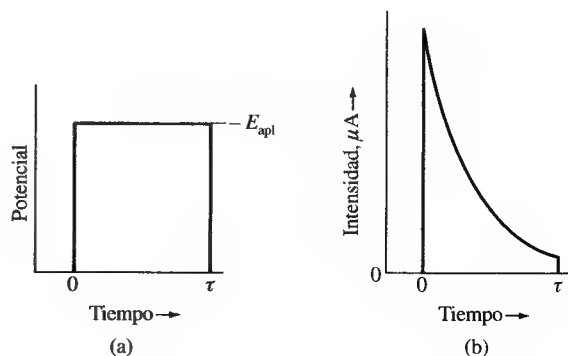
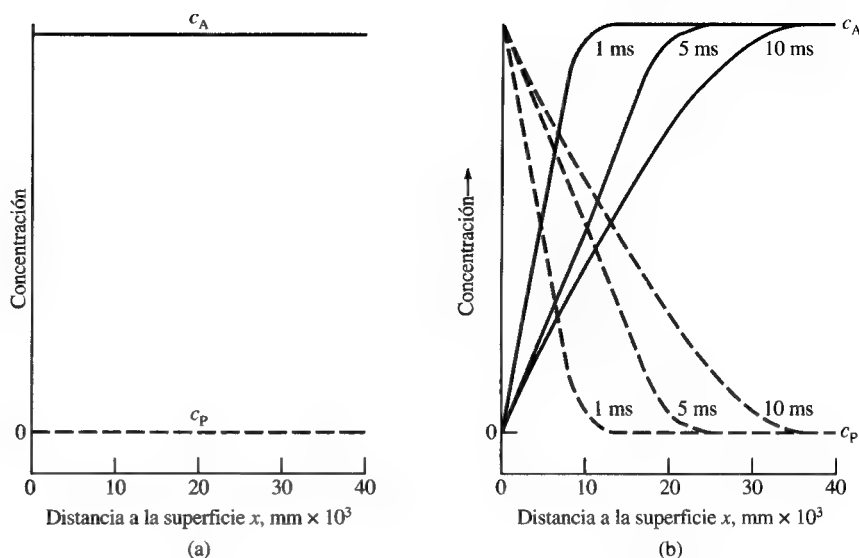


Figura 25-7. Respuesta de intensidad a un potencial en escalón aplicado a un microelectrodo plano en una disolución sin agitar. (a) Potencial de excitación. (b) Respuesta de la intensidad.

Figura 25-8. Perfiles de concentración en función de la distancia durante la reducción controlada por difusión de A para dar P en un microelectrodo plano. (a) $E_{\text{apl}} = 0$ V. (b) $E_{\text{apl}} =$ punto z en la Figura 25-5; tiempo transcurrido: 1; 5 y 10 ms.



discontinuas) se representan aquí en función de la distancia desde la superficie del electrodo. La gráfica de la izquierda indica que la disolución es homogénea antes de la aplicación del escalón de potencial, siendo c_A la concentración de A en la superficie del electrodo al igual que en el seno de la disolución; la concentración de P es cero en ambas regiones. Un milisegundo después de aplicar el potencial, los perfiles han cambiado drásticamente. En la superficie del electrodo, la concentración de A se reduce prácticamente a cero mientras que la concentración de P aumenta y llega a ser igual a la concentración original de A; esto es, $c_P^0 = c_A$. La concentración de A aumenta linealmente con la distancia a la superficie y se aproxima a c_A a unos 0,01 mm de la misma. En esta misma región tiene lugar una disminución de la concentración de P. Como se muestra en la figura, con el tiempo, estos gradientes de concentración se adentran cada vez más en la disolución.

La intensidad de corriente i necesaria para producir estos gradientes viene dada por las pendientes de los tramos de línea recta de las líneas continuas de la Figura 25-7b. Esto es,

$$i = \frac{\partial c_A}{\partial x} \quad (25-4)$$

Como se ve en la figura, la pendiente se hace cada vez más pequeña al aumentar el tiempo y por tanto también la intensidad de corriente.

No es práctico obtener corrientes límites con

electrodos planos en disoluciones no agitadas porque las intensidades de corriente disminuyen continuamente con el tiempo como consecuencia de que las pendientes de los perfiles de concentración se hacen menores.

Perfiles para microelectrodos en disoluciones agitadas

Se consideran los perfiles de concentración en función de la distancia cuando la reducción descrita en la sección anterior se lleva a cabo en un microelectrodo sumergido en una disolución que está vigorosamente agitada. Para entender el efecto de la agitación, es necesario representar los modelos de flujo de líquido en una disolución agitada que contiene un pequeño electrodo plano. Como se muestra en la Figura 25-9, se pueden identificar tres tipos de flujo. (1) *Flujo turbulento*, en el que el movimiento del líquido no tiene un modelo regular, este flujo tiene lugar en el seno de la disolución lejos del electrodo. (2) A medida que la superficie está más cerca, tiene lugar una transición a un *flujo laminar*. En el flujo laminar, las capas de líquido se deslizan unas respecto a otras en una dirección paralela a la superficie del electrodo. (3) A δ cm de la superficie del electrodo, la velocidad del flujo laminar se aproxima a cero como resultado de la fricción entre el líquido y el electrodo, dando lugar a una capa delgada de disolución estancada llamada *capa de difusión de Nernst*. Es sólo en la capa estancada de difusión de Nernst donde la concentración de reactante y producto varían en función de

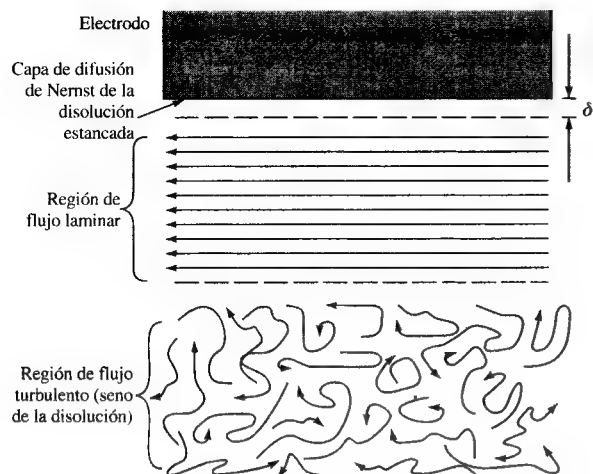


Figura 25-9. Modelos de flujo en la superficie de un microelectrodo en una disolución agitada.

la distancia a la superficie del electrodo. Es decir, a través de las regiones de flujo laminar y turbulento, la convección mantiene la concentración de A en su valor inicial y la concentración de P en un nivel de casi desaparición.

La Figura 25-10 muestra dos grupos de perfiles de concentración uno para A y otro para P a los tres potenciales que se indican como X, Y y Z en la Figura 25-5. En la Figura 25-10a, la disolución se divide en dos regiones. Una representa el seno de la disolución y se compone de las dos regiones de flujo turbulento y flujo laminar que se muestran en la Figura 25-9, donde el transporte de masa tiene lugar por convección mecánica producida por el agi-

tador. La concentración de A en esta región es c_A , mientras que c_P es prácticamente cero. La segunda región es la capa de difusión de Nernst, que está inmediatamente adyacente a la superficie del electrodo y tiene un espesor de δ cm. Normalmente, δ oscila entre 10^{-2} y 10^{-3} cm, dependiendo de la eficacia de la agitación y de la viscosidad del líquido. En la capa estática de difusión, el transporte de masa tiene lugar sólo por difusión, igual que en el caso de una disolución sin agitación. Sin embargo, si se agita la disolución, la difusión se limita a una capa estrecha de líquido, que no puede ampliarse hacia la disolución ni con el transcurso del tiempo. Como consecuencia, muy poco después de aplicar un potencial, aparecen intensidades de corriente constantes controladas por difusión.

Como se muestra en la Figura 25-10, al potencial X, la concentración de A en el equilibrio en la superficie del electrodo se ha reducido hasta un 80 por 100 de su valor inicial mientras que la concentración de P en el equilibrio ha aumentado en una cantidad equivalente; esto es, $c_P^0 = c_A - c_A^0$. Al potencial Y, que es el potencial de semionda, las concentraciones en equilibrio de las dos especies en la superficie son aproximadamente las mismas e iguales a $c_A/2$. Finalmente, al potencial Z e inferiores, la concentración de A en la superficie se aproxima a cero, mientras que la de P se aproxima a la concentración original de A, c_A . Por tanto, a potenciales más negativos que Z, prácticamente todos los iones A que entran en la capa superficial se reducen instantáneamente a P. Tal como se muestra en la Figura 25-10b, a potenciales mayores en va-

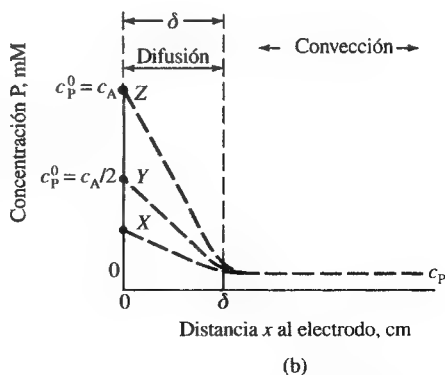
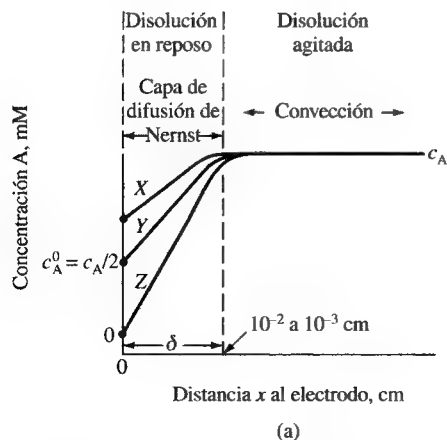


Figura 25-10. Perfiles de concentración en una interfase electrodo/disolución durante la electrólisis $A + ne^- \rightarrow P$ de una disolución agitada de A. Véase Figura 25-5 para los potenciales correspondientes a las curvas X, Y y Z.

lor absoluto que Z la concentración de P en la capa superficial permanece constante en $c_P^0 = c_A$ debido a la difusión de P hacia la región agitada.

25C-2. Corrientes voltamperométricas

La intensidad de corriente en cualquier momento de la electrólisis que estábamos considerando está determinada por la velocidad de transporte de A desde el límite exterior de la capa de difusión hasta la superficie del electrodo. Debido a que el producto de la electrólisis P difunde desde la superficie hacia la disolución y finalmente es eliminado por convección, se requiere una corriente continua para mantener las concentraciones superficiales demandadas por la ecuación de Nernst. La convección, sin embargo, mantiene un suministro constante de A en el borde externo de la capa de difusión. De este modo, se obtiene una intensidad de corriente constante que está determinada por el potencial aplicado. Esta intensidad de corriente es una medida cuantitativa de la rapidez con que A está siendo transportado a la superficie del electrodo y esta velocidad viene dada por $\partial c/\partial x$ donde x es la distancia en centímetros desde la superficie del electrodo. Para un electrodo plano, se puede demostrar que la intensidad de corriente viene dada por la expresión

$$i = nFAD_A \left(\frac{\partial c_A}{\partial x} \right) \quad (25-5)$$

donde i es la intensidad de corriente en amperios, n es el número de moles de electrones por mol de analito, F es el faraday, A es el área superficial del electrodo en cm^2 , D_A es el coeficiente de difusión de A en $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$, y c_A es la concentración de A en mol cm^{-3} . Obsérvese que $\partial c/\partial x$ es la pendiente de la parte inicial del perfil de concentración mostrado en Figura 25-10 a, y estas pendientes se aproximan a $(c_A - c_A^0)/\delta$. En estas condiciones, la Ecuación 25-5 se reduce a

$$i = \frac{nFAD_A}{\delta} (c_A - c_A^0) = k_A (c_A - c_A^0) \quad (25-6)$$

donde la constante k_A es igual a $nFAD_A/\delta$.

La Ecuación 25-6 muestra que a medida que c_A^0 se hace más pequeña debido a la aplicación de un potencial más negativo, la intensidad de corriente

aumenta hasta que la concentración superficial se aproxima a cero, a partir de este momento la intensidad de corriente es constante e independiente del potencial aplicado. Así, cuando $c_A^0 \rightarrow 0$, la intensidad de corriente llega a ser la corriente límite i_l y la Ecuación 25-6 se reduce a la Ecuación 25-7⁶

$$i_l = \frac{nFAD_A}{\delta} c_A = k_A c_A \quad (25-7)$$

Esta deducción se basa en un modelo muy simplificado de la capa de difusión en el sentido de que la interfase entre las capas móvil y estacionaria se visualiza como un límite brusco en donde el transporte por convección cesa y empieza el transporte por difusión. No obstante, este modelo simplificado proporciona una aproximación razonable de la relación entre la intensidad de corriente y las variables que afectan a esta intensidad.

Relaciones intensidad/potencial para reacciones reversibles

Con el objeto de obtener una ecuación para la curva sigmoidea que se muestra en la Figura 25-5, se sustituye la Ecuación 25-7 en la Ecuación 25-6 y reordenando, se obtiene

$$c_A^0 = \frac{i_l - i}{k_A} \quad (25-8)$$

La concentración superficial de P puede expresarse también en términos de intensidad de corriente utilizando una relación similar a la Ecuación 25-5. Esto es,

$$i = - \frac{nFAD_P}{\delta} (c_P - c_P^0) \quad (25-9)$$

donde el signo menos indica la pendiente negativa del perfil de concentración de P . Obsérvese que D_P

⁶ El análisis dimensional de esta ecuación lleva a

$$\frac{n \left(\frac{\text{mol e}^-}{\text{mol analito}} \right) F \left(\frac{\text{C}}{\text{mol e}^-} \right) A \left(\text{cm}^2 \right) D_A \left(\frac{\text{cm}^2}{\text{s}} \right)}{\delta \left(\text{cm} \right)} \times c_A \left(\frac{\text{mol analito}}{\text{cm}^3} \right) = i_l \left(\frac{\text{C}}{\text{s}} \right)$$

Por definición, un culombio por segundo es un amperio.

es ahora el coeficiente de difusión de P. Pero ya hemos indicado anteriormente que durante la electrólisis la concentración de P se aproxima a cero en el seno de la disolución, por tanto, cuando $c_p \approx 0,0$

$$i = \frac{-nFAD_p c_p^0}{\delta} = k_p c_p^0$$

donde $k_p = -nAD_p/\delta$. Reordenando se obtiene

$$c_p^0 = i/k_p \quad (25-10)$$

Sustituyendo la Ecuaciones 25-8 y 25-10 en la Ecuación 25-3, se obtiene después de reordenar

$$E_{apl} = E_A^0 - \frac{0,0592}{n} \log \frac{k_A}{k_p} - \frac{0,0592}{n} \log \frac{i}{i_l - i} - E_{ref} \quad (25-11)$$

Cuando $i = i_l/2$, el tercer término del lado derecho de esta ecuación se hace igual a cero y, por definición, E_{apl} es el potencial de semionda. Esto es,

$$E_{apl} = E_{1/2} = E_A^0 - \frac{0,0592}{n} \log \frac{k_A}{k_p} - E_{ref} \quad (25-12)$$

Sustituyendo esta expresión en la Ecuación 25-11 da una expresión para el voltamperograma de la Figura 25-5. Esto es,

$$E_{apl} = E_{1/2} - \frac{0,0592}{n} \log \frac{i}{i_l - i} \quad (25-13)$$

A menudo, la relación k_A/k_p en la Ecuación 25-11 y en la Ecuación 25-12 es próxima a uno, por lo que se puede escribir para la especie A

$$E_{1/2} \approx E_A^0 - E_{ref} \quad (25-14)$$

Relaciones intensidad/potencial para reacciones irreversibles

Muchos procesos de electrodo voltamperométricos, en particular aquellos asociados con sistemas orgánicos, son irreversibles, lo que da lugar a ondas alargadas y no tan bien definidas. La descripción cuantitativa de tales ondas requiere un término adicional (que implica la energía de activación de la reacción) en la Ecuación 25-11 para tener en

cuenta la cinética del proceso electródico. A pesar de que los potenciales de semionda de las reacciones irreversibles normalmente muestran cierta dependencia con la concentración, las corrientes de difusión permanecen linealmente relacionadas con la concentración; por tanto, tales procesos se adaptan fácilmente al análisis cuantitativo con tal de que se disponga de patrones adecuados para la calibración.

Voltamperogramas para mezclas de reactantes

Normalmente, los reactantes de una mezcla se comportan independientemente en un microelectrodo; por tanto, el voltamperograma de una mezcla es simplemente la suma de las ondas de los componentes individuales. La Figura 25-11 muestra los voltamperogramas de un par de mezclas de dos componentes. Los potenciales de semionda de los dos reactantes difieren en unos 0,1 V en la curva A y en unos 0,2 V en la curva B. Obsérvese que un solo voltamperograma puede permitir la determinación cuantitativa de dos o más especies siempre que haya suficiente diferencia entre los potenciales de semionda sucesivos para permitir la evaluación de las corrientes de difusión individuales. Generalmente, se necesitan de 0,1 a 0,2 V si la especie más fácilmente reducible experimenta una reducción de dos electrones; un mínimo de 0,3 V se necesitan si la primera reducción es un proceso de un electrón.

Voltamperogramas anódicos y anódico/catódicos

En voltamperometría se encuentran tanto ondas anódicas como catódicas. Un ejemplo de onda anó-

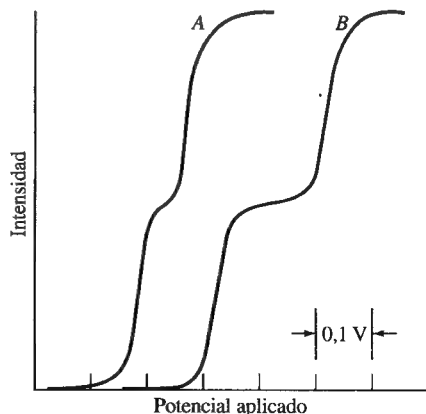


Figura 25-11. Voltamperogramas de mezclas de dos componentes. Los potenciales de semionda difieren en 0,1 V en la curva A, y en 0,2 V en la curva B.

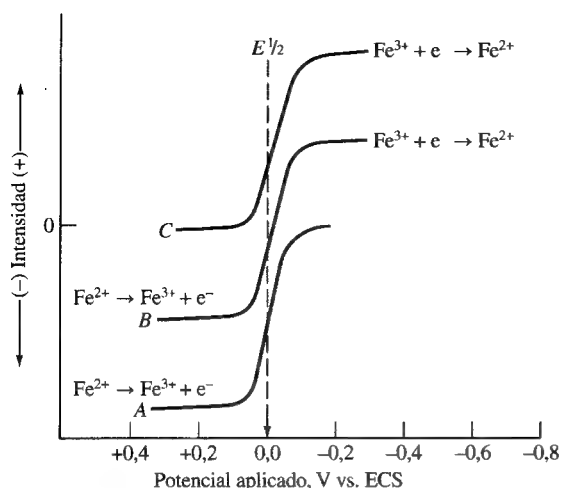


Figura 25-12. Comportamiento voltamperométrico del hierro(II) y del hierro(III) en un medio de citrato. Curva A: onda anódica para una disolución en que $[\text{Fe}^{2+}] = 1 \times 10^{-4} \text{ M}$. Curva B: onda anódica/catódica para una disolución en que $[\text{Fe}^{2+}] = [\text{Fe}^{3+}] = 0,5 \times 10^{-4} \text{ M}$. Curva C: onda catódica para una disolución en que $[\text{Fe}^{3+}] = 1 \times 10^{-4} \text{ M}$.

dica se ilustra en la curva A de la Figura 25-12, donde la reacción electródica implica la oxidación de hierro(II) a hierro(III) en presencia de ion citrato. La corriente límite se obtiene alrededor de +0,1 V (vs. ECS) y es debida a la semirreacción



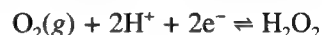
Al hacer más negativo el potencial, tiene lugar una disminución de la intensidad de corriente anódica; a aproximadamente -0,02 V, la corriente se hace cero, ya que la oxidación de los iones hierro(II) ha cesado.

La curva C representa el voltamperograma de una disolución de hierro(III) en el mismo medio. En este caso se obtiene una onda catódica para la reducción del hierro(III) al estado divalente. El potencial de semionda es el mismo que para la onda anódica, lo que indica que la oxidación y la reducción de las dos especies de hierro son perfectamente reversibles en el microelectrodo.

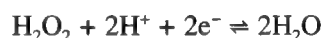
La curva B es un voltamperograma de una mezcla equimolar de hierro(II) y de hierro(III). La porción de la curva por debajo de la línea de intensidad de corriente cero corresponde a la oxidación del hierro(II); esta reacción cesa a un potencial aplicado igual al potencial de semionda. La parte superior de la curva se debe a la reducción del hierro(III).

25C-3. Ondas del oxígeno

El oxígeno disuelto se reduce fácilmente en un microelectrodo. Así, como se muestra en la Figura 25-13, una disolución acuosa saturada de aire presenta dos ondas inconfundibles atribuibles a este elemento. La primera resulta de la reducción del oxígeno a peróxido de hidrógeno:



La segunda corresponde a la posterior reducción del peróxido de hidrógeno:



Tal como cabría esperar de consideraciones estequiométricas, las dos ondas tienen la misma altura.

Las medidas voltamperométricas ofrecen un método adecuado y ampliamente utilizado para la determinación de oxígeno disuelto en disoluciones. Sin embargo, la presencia de oxígeno a menudo interfiere en la determinación exacta de otras especies. Por tanto, la eliminación del oxígeno es generalmente la primera etapa en los procedimientos voltamperométricos. La desaireación de la disolución durante varios minutos con un gas inerte (*purga*) permite esta eliminación; se hace pasar sobre la superficie una corriente del mismo gas, normalmente nitrógeno, durante el análisis, para evitar la reabsorción del oxígeno.

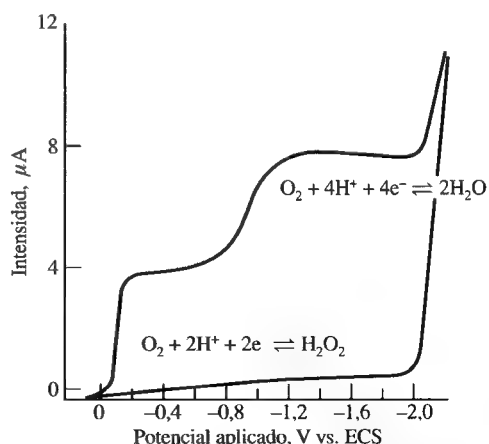


Figura 25-13. Voltamperogramas de la reducción del oxígeno de una disolución 0,1 M de KCl saturada de aire. La curva inferior corresponde a una disolución 0,1 M de KCl libre de oxígeno.

25C-4. Aplicaciones de la voltamperometría hidrodinámica

Actualmente, las aplicaciones más importantes de la voltamperometría hidrodinámica incluyen: (1) la detección y la determinación de especies químicas a medida que son eluidas de columnas cromatográficas o de instrumentos de inyección en flujo; (2) las determinaciones de rutina de oxígeno y de ciertas especies de interés bioquímico, tales como glucosa, lactosa y sacarosa; (3) la detección de puntos finales en valoraciones coulombimétricas y volumétricas; (4) estudios básicos de procesos electroquímicos.

Detectores voltamperométricos⁷ en cromatografía y análisis por inyección de flujo

La voltamperometría hidrodinámica está siendo ampliamente utilizada para la detección y determinación de compuestos oxidables y reducibles o de iones que han sido separados por cromatografía líquida de alta resolución o por métodos de inyección en flujo. En estas aplicaciones se utiliza una celda de capa delgada tal como la que se muestra en la Figura 25-14. En estas celdas el electrodo de trabajo está normalmente empotrado en la pared de un bloque aislante que está separado del electrodo auxiliar por un espaciador delgado tal como se muestra. El volumen de una celda de este tipo es normalmente de 0,1 a 1 μL . El potencial correspondiente a la región de corriente límite de los analitos se aplica entre un electrodo de trabajo metálico o de carbono vítreo y un electrodo de referencia de plata/cloruro de plata que está situado a la salida del flujo del detector. En este tipo de aplicaciones, se obtienen límites de detección para el analito tan bajos como 10^{-9} a 10^{-10} M. Esta aplicación de la

⁷ Los detectores voltamperométricos son un tipo particular de transductores denominados *transductores de corriente límite*. En esta discusión y en las siguientes que impliquen a transductores voltamperométricos, utilizaremos el término, mucho más familiar, de *detector voltamperométrico*. Cuando un transductor voltamperométrico es por sí mismo selectivo a una especie en particular en virtud del control de diferentes variables experimentales o cuando está recubierto con una capa de polímero químicamente selectiva u otro material de membrana, le denominaremos *sensor voltamperométrico*. Para una discusión de los transductores, detectores, sensores y sus definiciones, véase el Capítulo 1.

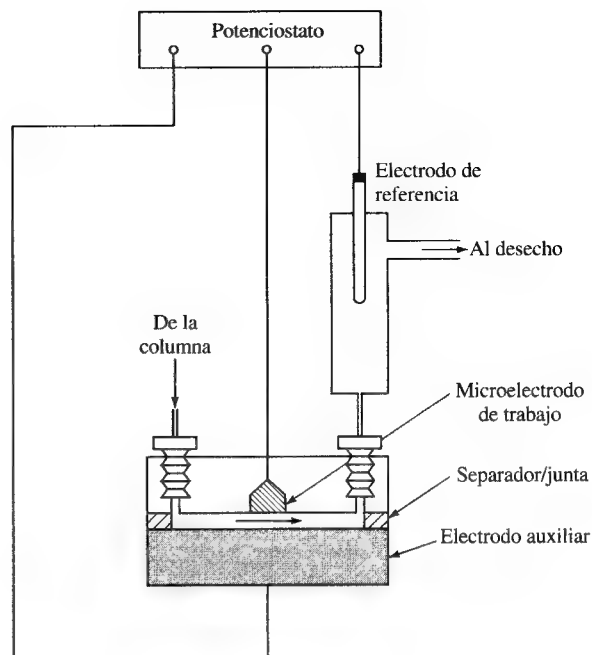


Figura 25-14. Sistema voltamperométrico para la detección de especies electroactivas cuando son eluidas de una columna.

voltamperometría hidrodinámica se considera de nuevo en el Apartado 28C-6

Sensores voltamperométricos

Comercialmente se distribuyen diversos sistemas voltamperométricos para la determinación de especies concretas que tienen interés en la industria y en la investigación. Estos dispositivos se llaman a veces electrodos o detectores, pero de hecho son celdas voltamperométricas completas y es mejor referirse a ellos como sensores. Dos de estos dispositivos se describen a continuación.

Sensores de oxígeno. La determinación del oxígeno disuelto en una gran variedad de medios acuosos, tales como el agua de mar, la sangre, las aguas residuales, los efluentes de plantas químicas y suelos, es de una gran importancia para la industria, para la investigación biomédica y ambiental y para la medicina clínica. Uno de los métodos más comunes y adecuados para hacer tales medidas es el empleo del *sensor de oxígeno de Clark*, que fue patentado por L. C. Clark Jr., en 1956⁸. En la Figu-

⁸ Para una discusión detallada del sensor de oxígeno de Clark, véase M. L. Hitchman, *Measurement of Dissolved Oxygen*, Capítulos 3-5. New York: Wiley, 1978.

ra 25-15 se muestra un esquema de un sensor de oxígeno de Clark. La celda consta de un electrodo de trabajo que actúa de cátodo y que es un disco de platino empotrado en un aislante cilíndrico situado en el centro. Rodeando la parte inferior de este aislante hay un ánodo de plata en forma de anillo. El aislante tubular y los electrodos se montan en el interior de un segundo cilindro que contiene una disolución tamponada de cloruro de potasio. Al final del tubo y mediante un anillo se mantiene una membrana delgada ($\approx 20 \mu\text{m}$) de Teflón o de polietileno, recambiable y permeable al oxígeno. El espesor de la disolución de electrolito entre el cátodo y la membrana es de aproximadamente $10 \mu\text{m}$.

Cuando el sensor de oxígeno se sumerge en una disolución del analito que fluye o está agitada, el oxígeno difunde a través de la membrana hasta la capa delgada de electrolito inmediatamente adyacente al cátodo de disco, desde donde difunde hacia el electrodo donde se reduce inmediatamente a agua. A diferencia de un electrodo hidrodinámico normal, en este caso están implicados dos procesos de difusión, uno a través de la membrana y el otro a

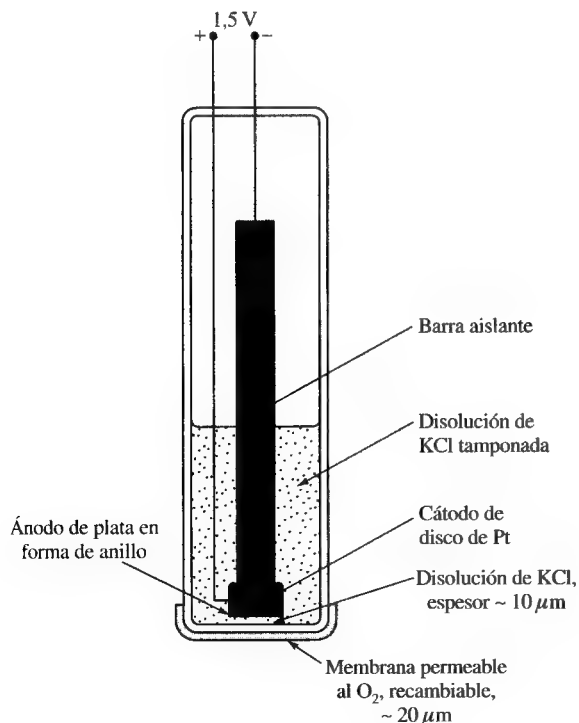


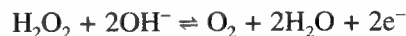
Figura 25-15. Sensor voltamperométrico de oxígeno de Clark. Reacción catódica: $\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{H}_2\text{O}$. Reacción anódica: $\text{Ag} + \text{Cl}^- \rightarrow \text{AgCl(s)} + \text{e}^-$.

través de la disolución entre la membrana y la superficie del electrodo. Para que se alcance la condición de estado estacionario en un período razonable (10 a 20 s), el espesor de la membrana y de la película de electrolito debe ser de unos $20 \mu\text{m}$ o inferior. En estas condiciones, la velocidad de equilibración de la transferencia de oxígeno a través de la membrana es la que determina la velocidad a la cual se alcanzan las intensidades de corriente del estado estacionario.

Sensores enzimáticos. Comercialmente se ofrecen un cierto número de sensores voltamperométricos enzimáticos. Un ejemplo es el sensor de glucosa que se utiliza ampliamente en los laboratorios clínicos para la determinación rutinaria de glucosa en sueros sanguíneos. Este dispositivo es de construcción similar al sensor de oxígeno que se muestra en la Figura 25-15. La membrana en este caso es más compleja y consta de tres capas. La capa externa es una película de policarbonato permeable a la glucosa pero impermeable a las proteínas y a otros constituyentes de la sangre. La capa intermedia es una enzima inmovilizada (véase Apartado 23E-2), en este caso glucosa oxidasa. La capa interna es una membrana de acetato de celulosa, que es permeable a las moléculas pequeñas, tales como el peróxido de hidrógeno. Cuando este dispositivo se sumerge en una disolución que contiene glucosa, la glucosa difunde a través de la membrana externa hacia la enzima inmovilizada, donde tiene lugar la siguiente reacción catalítica:



El peróxido de hidrógeno difunde a través de la capa interna de la membrana hacia la superficie del electrodo, donde se oxida a oxígeno. Esto es,



La intensidad de corriente resultante es directamente proporcional a la concentración de glucosa de la disolución.

También se dispone de otros sensores que están basados en mediciones voltamperométricas del peróxido de hidrógeno producido por oxidaciones enzimáticas de otras especies de interés clínico. Entre estos analitos están la sacarosa, la lactosa, el etanol y el L-lactato. Por supuesto, para cada caso se requiere una enzima diferente.

Valoraciones amperométricas

La voltamperometría hidrodinámica se puede utilizar para estimar el punto de equivalencia de valoraciones, siempre que al menos uno de los participantes o de los productos de la reacción considerada se oxide o reduzca en el microelectrodo. En este caso, se mide la intensidad de corriente a un potencial fijado de la región de corriente límite en función del volumen de reactivo (o del tiempo si el reactivo se genera por un proceso coulombimétrico a intensidad constante). Las representaciones de los datos a ambos lados del punto de equivalencia son líneas rectas con diferentes pendientes; el punto final se establece por extrapolación hasta su intersección.

Las curvas de las valoraciones amperométricas tienen normalmente las formas que se muestran en la Figura 25-16. La Figura 25-16a representa una valoración en la que el analito reacciona en el electrodo mientras que el reactivo no lo hace. La Figura 25-16b es típica de una valoración en la que el reactivo reacciona en el microelectrodo y el analito no. La Figura 25-16c corresponde a una valoración en la que ambos, el analito y el reactivo valorante reaccionan en el microelectrodo.

Se utilizan dos tipos de sistemas electródicos amperométricos. Uno emplea un único microelectrodo polarizable acoplado a uno de referencia; el otro utiliza un par de microelectrodos de estado sólido idénticos sumergidos en una disolución agitada. En el primero, el microelectrodo es a menudo un electrodo rotatorio de platino construido sellando un alambre de platino en el interior de un tubo de vidrio que está conectado a un motor que agita la disolución. Se puede utilizar también un electrodo de gotas de mercurio si la disolución no está agitada.

Con una notable excepción, las valoraciones amperométricas con un electrodo indicador se emplean tan sólo en los casos en los que el producto es

un precipitado o un complejo estable. Los reactivos precipitantes utilizados incluyen el nitrato de plata para los iones haluro, el nitrato de plomo para el ion sulfato y diversos reactivos orgánicos, tales como la 8-hidroxiquinoleína, la dimetilglioxima y el cupferrón, para varios iones metálicos que son reducibles en los microelectrodos. Se han determinado diversos iones metálicos por valoración con disoluciones patrón de EDTA. La excepción antes señalada corresponde a valoraciones de compuestos orgánicos tales como ciertos fenoles, aminas aromáticas, olefinas, hidrazina; y arsénico(III) y antimonio(III) con bromo. El bromo se genera a menudo coulombimétricamente; se le ha formado también por adición de una solución patrón de bromato de potasio a una disolución ácida de un analito que también contiene un exceso de bromuro de potasio. El bromo se forma en el medio ácido por la reacción



Este tipo de valoración se lleva a cabo con un electrodo de platino rotatorio o con un par de microelectrodos idénticos de platino. No se observa intensidad de corriente antes del punto de equivalencia; pero después del punto de equivalencia químico, tiene lugar un rápido aumento de la intensidad de corriente debido a la reducción electroquímica del exceso de bromo.

La utilización de un par de microelectrodos metálicos idénticos para establecer el punto de equivalencia en las valoraciones amperométricas ofrece la ventaja de la sencillez del equipo y evita el tener que preparar y mantener un electrodo de referencia. Este tipo de sistemas se ha incorporado a los equipos diseñados para las determinaciones automáticas de rutina de una sola especie, empleando normalmente un reactivo generado coulombimétricamente. Un ejemplo de este tipo de sistemas es un instrumento para la determinación automática de cloruro en muestras de suero, sudor, extracto de tejidos, pesticidas y productos alimentarios. En este caso, el reactivo es el ion plata generado coulombimétricamente a partir de un ánodo de plata. El sistema indicador consta de un par de microelectrodos de plata iguales entre los que se impone una diferencia de potencial de unos 0,1 V. En la valoración del ion cloruro cerca del punto de equivalencia prácticamente no hay corriente, ya que en la disolución no hay especies fácilmente reducibles. En consecuencia, la transferencia de electrones al cátodo es imposible y el electrodo está

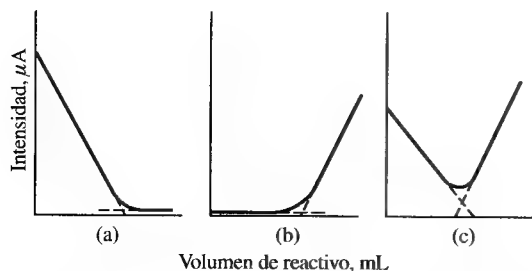


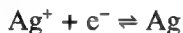
Figura 25-16. Curvas típicas de valoración amperométrica: (a) el analito se reduce y no se reduce el reactivo; (b) el reactivo se reduce y no lo hace el analito; (c) ambos se reducen.

completamente polarizado. Obsérvese que el ánodo no está polarizado, ya que la reacción



tiene lugar en presencia de un reactivo catódico adecuado o de un despolarizador.

Pasado el punto de equivalencia, el cátodo se despolariza debido a la presencia de una cantidad significativa de iones plata, que pueden reaccionar para dar plata. Esto es,



Como resultado de esta semirreacción y de la correspondiente oxidación de la plata en el ánodo se desarrolla una corriente. Como en otros métodos amperométricos, la intensidad de corriente es directamente proporcional a la concentración del exceso de reactivo. Así, la curva de valoración es similar a la que se muestra en la Figura 25-16b. En el valorador automático antes mencionado, la señal de corriente amperométrica hace que la corriente del generador coulombimétrico cese; la concentración de cloruro se calcula entonces a partir de la magnitud de la intensidad de corriente y del tiempo de generación. El instrumento se dice que tiene un intervalo de 1 a 999,9 mM de Cl^- por litro, una precisión relativa del 0,1 por 100, y una exactitud relativa del 0,5 por 100. Los tiempos de valoración típicos son de 20 s.

Estudios básicos con electrodos rotatorios

Para llevar a cabo estudios teóricos de reacciones de oxidación/reducción, es a menudo interesante conocer cómo está afectada la k_A de la Ecuación 25-7 por las condiciones hidrodinámicas del sistema. El método más común de obtener una descripción rigurosa del flujo hidrodinámico de una disolución agitada se basa en un *electrodo de disco rotatorio*, tal como el que se ilustra en las Figuras 25-17a y 17b. Cuando el electrodo de disco se hace girar rápidamente, se establece el modelo de flujo mostrado por las flechas en la figura. En este caso el líquido en la superficie del disco se mueve hacia fuera horizontalmente desde el centro del dispositivo, lo que da lugar a un flujo axial hacia arriba para compensar el líquido desplazado. Un tratamiento riguroso de la hidrodinámica es posible en este caso y se obtiene la ecuación

$$i_l = 0,620nFAD^{2/3}\nu^{-1/6}\omega^{1/2}c_A \quad (25-15)$$

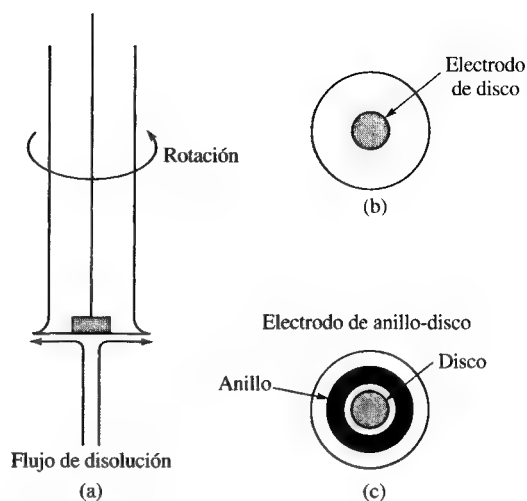


Figura 25-17. (a) Vista lateral de un electrodo de disco rotatorio que muestra el modelo de flujo de la disolución. (b) Vista de la base de un electrodo de disco. (c) Vista de la base de un electrodo de anillo-disco.

donde ω es la velocidad angular del disco ($2\pi \times$ velocidad de rotación en revoluciones por segundo), ν es la viscosidad cinemática en cm^2/s y los otros términos tienen el mismo significado que en la Ecuación 25-5. Los voltamperogramas de los sistemas reversibles generalmente tienen la forma ideal que se muestra en la Figura 25-5. Se han llevado a cabo numerosos estudios de las cinéticas y de los mecanismos de las reacciones electroquímicas con electrodos rotatorios de disco. Sin embargo, este tipo de electrodo ha encontrado poco o ningún uso en análisis, ya que no es muy adecuado su montaje y utilización.

El *electrodo de anillo-disco rotatorio* es un electrodo de disco rotatorio modificado que es un dispositivo útil para el estudio de reacciones electroquímicas, pero que tiene poca utilidad en análisis. La Figura 25-17c muestra que un electrodo de anillo-disco contiene un segundo electrodo en forma de anillo que está eléctricamente aislado del disco central. Cuando se utiliza este dispositivo, la especie reactiva que se genera electroquímicamente en el disco es barrida hacia el anillo donde es detectada voltamperométricamente. La Figura 25-18 muestra los voltamperogramas de un experimento típico de anillo disco. La curva de la izquierda es el voltamperograma obtenido en la reducción del oxígeno a peróxido de hidrógeno en el electrodo de disco. La curva de la derecha es el voltamperograma *anódico* para la oxidación del peróxido de hidrógeno cuan-

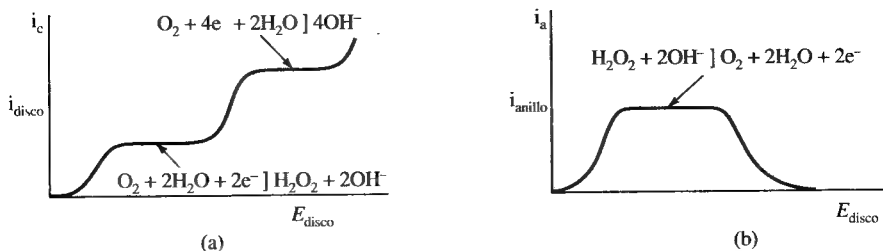


Figura 25-18. Intensidades en un disco (a) y en un anillo (b) en la reducción del oxígeno en un electrodo de anillo-disco. (De *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, P. T. Kissinger y W. R. Heineman, Eds., pág. 117. New York: Marcel Dekker, 1984. Con autorización.)

do su flujo pasa por el electrodo de anillo. Obsérvese que cuando el potencial del electrodo de disco es suficientemente negativo como para que el producto de la reducción sea el hidróxido en vez del peróxido de hidrógeno, la corriente en el electrodo de anillo disminuye a cero. Estudios de este tipo proporcionan información mucho más útil sobre mecanismos y productos intermedios en reacciones electroquímicas.

25D. VOLTAMPEROMETRÍA CÍCLICA⁹

En voltamperometría cíclica (CV), la variación de corriente en un electrodo estacionario pequeño colocado en una disolución no agitada está provocada por una señal de potencial de forma triangular, tal como la que se muestra en la Figura 25-19. En este ejemplo, el potencial varía primero linealmente desde +0,8 V a -0,15 V frente a un electrodo de calomelanos saturado; cuando se alcanza este valor el sentido del barrido se invierte y el potencial vuelve a su valor original de +0,8 V. La velocidad de barrido en ambas direcciones es de 50 mV/s. Este ciclo de excitación se repite a menudo varias veces. Los potenciales a los que tiene lugar la inversión (en este caso, -0,15 y +0,8 V) se llaman *potenciales de inversión*. El intervalo de potenciales de inversión elegido para un experimento dado es aquel en el que tiene lugar la oxidación o la reducción controladas por difusión de uno o más analitos. Dependiendo de la composición de la muestra, la dirección del barrido inicial puede ser

negativa, tal como se muestra en la figura, o positiva (un barrido en la dirección de potenciales más negativos se denomina un *barrido directo*, mientras que uno en la dirección opuesta se le llama un *barrido inverso*). Generalmente, los tiempos del ciclo oscilan desde 1 ms o menos hasta 100 s o más. En este ejemplo el ciclo es de 40 s.

La Figura 25-20 muestra la variación de corriente cuando una disolución 6 mM en $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ y 1 M en KNO_3 se somete a la señal de excitación cíclica que se muestra en la Figura 25-19. El electrodo de trabajo es un microelectrodo estacionario de platino y el de referencia es un electrodo de calomelanos saturado. Al potencial inicial de +0,8 V, se observa una pequeña corriente anódica, que inmediatamente llega a cero cuando se continúa el barrido. Esta corriente negativa inicial proviene de la oxidación del agua para dar oxígeno (a potencia-

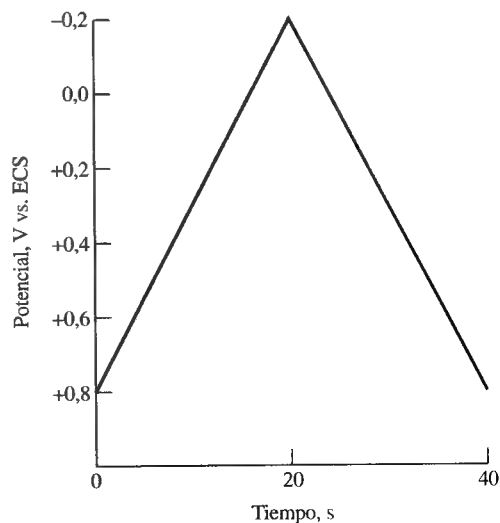


Figura 25-19. Señal de excitación en voltamperometría cíclica utilizada para obtener el voltamperograma de la Figura 25-20.

⁹ Para revisiones breves, véase P. T. Kissinger y W. R. Heineman, *J. Chem. Educ.*, **1983**, 60, 702; D. H. Evans, K. M. O'Connell, T. A. Petersen, y M. J. Kelly, *J. Chem. Educ.*, **1983**, 60, 290.

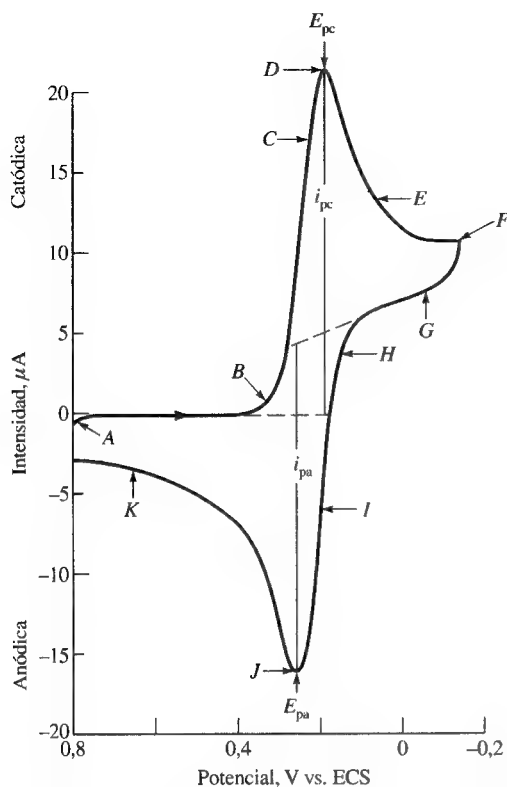
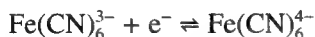


Figura 25-20. Voltamperograma cíclico de una disolución 6,0 mM en $K_3Fe(CN)_6$ y 1,0 M en KNO_3 .

les más positivos, esta corriente aumenta rápidamente y se hace bastante grande a +0,9 V). No se observa corriente entre un potencial de +0,7 y +0,4 V, ya que no hay especies reducibles u oxidables en este intervalo de potencial. Cuando el potencial alcanza valores menos positivos que +0,4 V, se desarrolla una corriente catódica (punto B) debida a la reducción de ion hexacianoferrato(III) a ion hexacianoferrato(II). La reacción en el cátodo es entonces

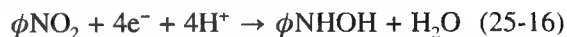


En la región entre B y D tiene lugar un rápido aumento de la corriente a medida que la concentración superficial de $Fe(CN)_6^{3-}$ se hace cada vez menor. La corriente del pico se debe a dos componentes. Una es la corriente inicial transitoria necesaria para ajustar la concentración superficial de reactivo a su concentración de equilibrio dada por la ecuación de Nernst. La segunda es la corriente controlada por difusión normal. La primera corriente disminuye rápidamente (puntos D a F) a medida

que la capa de difusión se extiende hacia el exterior de la superficie del electrodo (véase también Figura 25-7a). En el punto -0,15 V (F), se invierte la dirección del barrido. Sin embargo, la corriente continúa siendo catódica incluso cuando el barrido se dirige a potenciales más positivos, debido a que los potenciales son todavía lo suficientemente negativos para producir la reducción del $Fe(CN)_6^{3-}$. Una vez que el potencial es suficientemente positivo para que la reducción del $Fe(CN)_6^{3-}$ no pueda ocurrir, la corriente cae a cero y entonces llega a ser anódica. La corriente anódica resulta de la reoxidación del $Fe(CN)_6^{4-}$ que se ha acumulado cerca de la superficie durante el barrido directo. Esta corriente anódica da un pico y después disminuye a medida que el $Fe(CN)_6^{4-}$ acumulado se consume en la reacción anódica.

Los parámetros importantes en un voltamperograma cíclico son el potencial de pico catódico E_{pc} , el potencial de pico anódico E_{pa} , la corriente de pico catódica i_{pc} y la corriente de pico anódica i_{pa} . Estos parámetros se definen tal como se muestra en la Figura 25-20. Para una reacción de electrodo reversible, las corrientes de pico anódica y catódica son aproximadamente iguales, pero de signo opuesto, y la diferencia entre los potenciales de pico es de $0,0592/n$, donde n es el número de electrones implicados en la semirreacción.

La aplicación principal de la voltamperometría cíclica es como herramienta para estudios básicos y diagnósticos que proporciona información cualitativa sobre procesos electroquímicos en diversas condiciones. A modo de ejemplo, considérese el voltamperograma cíclico del insecticida agrícola paratión que se muestra en la Figura 25-21¹⁰. Los potenciales de inversión son a -0,8 V y +0,3 V. Sin embargo, el barrido directo inicial se empezó a 0,0 V y no a +0,3 V. Se observaron tres picos. El primer pico catódico (A) proviene de la reducción mediante cuatro electrones del paratión para dar un derivado de la hidroxilamina



El pico anódico en B proviene de la oxidación de la hidroxilamina al derivado nitroso durante el barrido inverso. La reacción electródica es



¹⁰ Esta discusión y el voltamperograma proceden de W. R. Heineman y P. T. Kissinger, *Amer. Lab.*, 1982 (11), 29.

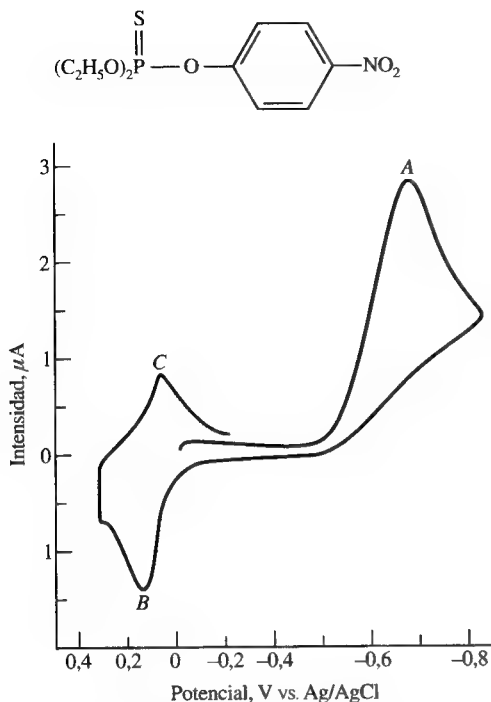


Figura 25-21. Voltamperograma cíclico del insecticida paratión en un tampón de acetato de sodio 0,5 M pH 5 en etanol al 50 por 100. Electrodo de gota colgante de mercurio. Velocidad de barrido: 200 mV/s.

El pico catódico en *C* resulta de la reducción del compuesto nitroso a hidroxilamina tal como muestra la ecuación



Los voltamperogramas cíclicos de muestras conocidas de los dos intermedios confirmaron las identidades de los compuestos responsables de los picos *B* y *C*.

La voltamperometría cíclica, aunque no se utiliza para análisis cuantitativos de rutina, es una herramienta importante para el estudio de los mecanismos y de las velocidades de los procesos de oxidación/reducción, en particular para sistemas orgánicos y organometálicos. Este método es generalmente la primera técnica seleccionada para la investigación de un sistema tratable electroquímicamente. A menudo, los voltamperogramas cíclicos revelan la presencia de intermedios en las reacciones de oxidación/reducción (por ejemplo, véase Figura 25-21). Normalmente, se utiliza el platino para fabricar los microelectrodos utilizados en esta técnica.

25E. POLAROGRAFÍA

La polarografía fue el primer tipo de voltamperometría descubierto y utilizado. Difiere de la voltamperometría hidrodinámica en dos aspectos. En primer lugar, se elimina la convección y en segundo lugar, se utiliza un electrodo de gotas de mercurio como el que se muestra en la Figura 25-3c como electrodo de trabajo. Una consecuencia de la primera diferencia es que las intensidades límites polarográficas están controladas sólo por difusión en vez de por difusión y convección. Debido a que la convección está ausente, las corrientes límite polarográficas son generalmente uno o más órdenes de magnitud menores que las corrientes límite hidrodinámicas.

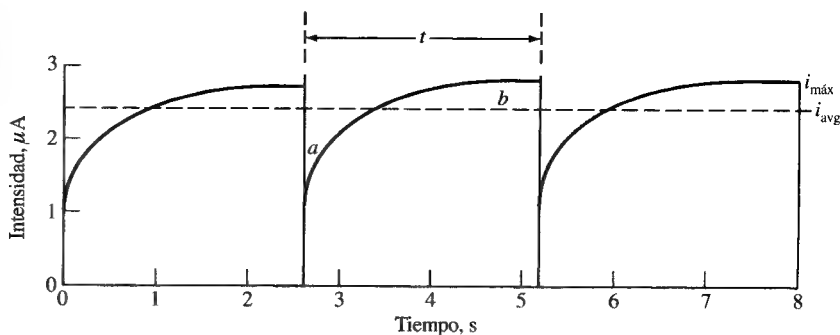
25E-1. Polarografía de barrido lineal

Los primeros métodos polarográficos se basaban en medir la intensidad de corriente en función del potencial aplicado a un electrodo de gotas de mercurio. En la mayor parte de los experimentos, el electrodo de gotas se unía al terminal negativo de un fuente de corriente continua, y el potencial de esta fuente se aumentaba de manera lineal hasta que la corriente crecía exponencialmente como consecuencia de la reducción del disolvente o del electrólito soporte.

Corrientes polarográficas

La intensidad de corriente en una celda que contiene un electrodo de gotas experimenta fluctuaciones periódicas que corresponden en frecuencia a la velocidad de goteo. Cuando una gota se desprende del capilar, la intensidad de corriente cae a cero (véase Fig. 25-22); entonces aumenta rápidamente cuando el área del electrodo crece debido a la mayor superficie hacia la que la difusión puede tener lugar. La *corriente promedio* es la hipotética corriente *constante*, la cual en el tiempo de gota *t* produciría la misma cantidad de carga que produce la corriente fluctuante durante el mismo período. Para determinar esta corriente promedio, es necesario reducir las grandes fluctuaciones en la corriente con un filtro de paso bajo (Apartado 2B-5) o muestreando la corriente cerca del final de cada gota, donde la variación de la corriente con el tiempo es relativamente pequeña. Tal como se muestra en la Figura 25-23 curva A, el filtro de paso bajo

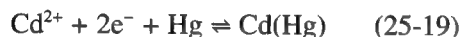
Figura 25-22. Efecto del crecimiento de la gota en la corriente polarográfica. Para i_{avg} , área $a = \text{área } b$ e $i_{\text{avg}} \approx 6/7 i_{\text{máx}}$.



limita las oscilaciones a una magnitud razonable y la corriente promedio (o, alternativamente, la corriente máxima) se determina entonces fácilmente, siempre que el tiempo de goteo t sea reproducible. Obsérvese el efecto de gotas irregulares en la parte superior de la curva A, probablemente causadas por vibraciones de los aparatos.

Polarogramas

La Figura 25-23 muestra dos polarogramas, uno corresponde a una disolución 1,0 M en ácido clorhídrico y 5×10^{-4} M en ion cadmio (curva A), y el otro corresponde al ácido en ausencia de ion cadmio (curva B). La onda polarográfica en la curva A proviene de la reacción



donde Cd(Hg) representa el cadmio elemental disuelto en mercurio, dando una amalgama. El aumento brusco de la corriente a aproximadamente -1 V en ambos polarogramas es debido a la reducción de los iones hidrógeno dando hidrógeno. El examen del polarograma correspondiente al electrolito soporte sólo revela que una intensidad de corriente pequeña, llamada *corriente residual*, está presente en la celda incluso en ausencia de iones cadmio.

Como en voltamperometría hidrodinámica, las corrientes límite se observan cuando la magnitud de la intensidad de corriente está limitada por la velocidad a la que el analito puede llegar a la superficie del electrodo. En polarografía, sin embargo, el único mecanismo de transporte de masa es la difusión y, por esta razón, las corrientes límite polarográficas se llaman normalmente *corrientes de*

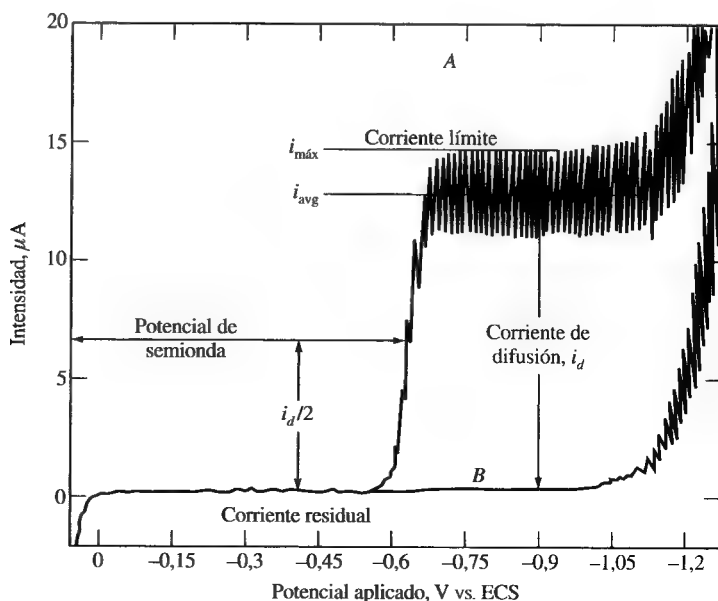


Figura 25-23. Polarogramas de (A) una disolución 1 M de HCl que es 5×10^{-4} M en Cd^{2+} y (B) una disolución 1 M de HCl.

difusión y se representan con el símbolo i_d . Tal como se muestra en la Figura 25-23, la corriente de difusión es la diferencia entre la corriente límite y la residual. La corriente de difusión es directamente proporcional a la concentración de analito.

Corriente de difusión en los electrodos de gotas

En la deducción de una ecuación para las corrientes de difusión polarográficas, es necesario tener en cuenta la velocidad de crecimiento del electrodo esférico, que está relacionada con el tiempo de gota en segundos t , la velocidad de flujo de mercurio a través del capilar m en mg/s y el coeficiente de difusión del analito D en cm^2/s . Estas variables se tienen en cuenta en la *ecuación de Ilkovic*:

$$(i_d)_{\text{máx}} = 706 n D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} c$$

donde $(i_d)_{\text{máx}}$ es la corriente máxima en microamperios, y c es la concentración del analito en *mili-moles por litro*. Para obtener una expresión para la corriente promedio en vez de la máxima, la constante en la ecuación anterior debe ser 607 en vez de 706. Esto es,

$$(i_d)_{\text{avg}} = 607 n D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} c \quad (25-20)$$

Obsérvese que tanto la corriente promedio como la máxima se pueden utilizar en polarografía cuantitativa.

El producto $m^{2/3} t^{1/6}$ en la ecuación de Ilkovic, llamado *constante del capilar*, describe la influencia de las características del electrodo de gotas en la corriente de difusión; tanto m como t se evalúan con facilidad experimentalmente y es por tanto posible comparar las corrientes de difusión de diferentes capilares.

Corrientes residuales

La Figura 25-24 muestra una curva de corriente residual (obtenida a sensibilidad elevada) para una disolución 0,1 M de ácido clorhídrico. Esta intensidad de corriente tiene dos componentes. El primero corresponde a la reducción de trazas de impurezas que están siempre inevitablemente presentes en la disolución del blanco e incluye la contribución de pequeñas cantidades de oxígeno disuelto, de iones de metales pesados del agua destilada y de las impurezas presentes en la sal utilizada como electrólito soporte.

El segundo componente de la corriente residual es la llamada *corriente de carga* o *capacitiva* que resulta del flujo de electrones que carga las gotas de mercurio con respecto a la disolución; esta corriente puede ser tanto negativa como positiva. A potenciales más negativos que aproximadamente $-0,4$ V, el exceso de electrones de la fuente de corriente continua proporcionan a la superficie de cada gota una carga negativa y este exceso de electrones desaparece con la gota cuando ésta cae. Debido a que cada nueva gota se carga cuando se forma, resulta una pequeña pero continua intensidad de corriente. A potenciales menos negativos que aproximadamente $-0,4$ V, el mercurio tiende a ser positivo con respecto a la disolución; de manera que cuando se forma cada gota, los electrones son repelidos de la superficie hacia el seno del mercurio produciendo una intensidad de corriente negativa. A aproximadamente $-0,4$ V, la superficie del mercurio no está cargada y la corriente de carga es cero. La corriente de carga es un tipo de *corriente no faradaica* (véase Apartado 22 A-3) en el sentido de que la carga es transportada a través de la interfase electrodo/disolución sin que le acompañe un proceso de oxidación/reducción.

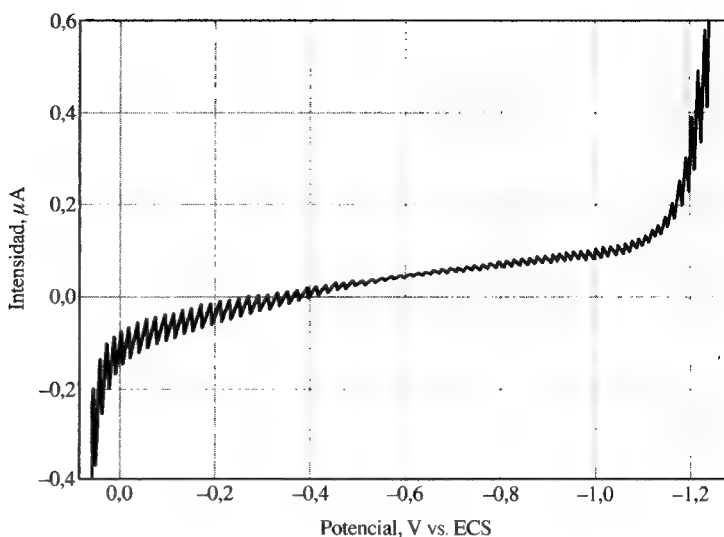
Finalmente, la exactitud y sensibilidad del método polarográfico dependen de la magnitud de la corriente residual no faradaica y de la exactitud con la que una corrección de este efecto pueda determinarse.

Comparación de las corrientes de los electrodos de gotas y de los electrodos estacionarios planos

Tal como se indicó en el Apartado 25B-3, con un electrodo plano no se obtienen corrientes constantes en periodos de tiempo razonables, en una disolución sin agitar, debido a que los gradientes de concentración fuera de la superficie del electrodo cambian constantemente con el tiempo. En contraste, el electrodo de gotas presenta corrientes constantes y reproducibles prácticamente instantáneamente después de aplicar un potencial. Este comportamiento representa una ventaja del electrodo de gotas de mercurio que justifica su amplia utilización en los primeros años de la voltamperometría.

El alcance rápido de una corriente constante es debido a la naturaleza altamente reproducible del proceso de formación de las gotas, así como a que la disolución en la proximidad del electrodo llega a hacerse homogénea cada vez que una gota cae del capilar. De esta manera, se desarrolla un gradiente

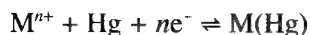
Figura 25-24. Curva de la corriente residual de una disolución 0,1 M de HCl.



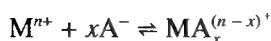
de concentración sólo durante el breve tiempo de vida de la gota. Como se ha señalado, tienen lugar cambios en la intensidad de corriente durante el tiempo de vida de la gota, debidos al aumento del área superficial. También tienen lugar, durante este periodo, cambios en el gradiente de difusión dc/dx . Pero estos cambios son totalmente reproducibles, dando lugar a intensidades que son también altamente reproducibles.

Efecto de la formación de complejos en la ondas polarográficas

Se ha visto ya (Apartado 22C-10) que el potencial para la oxidación o reducción de un ion metálico está muy afectado por la presencia de especies que forman complejos con este ion. No es sorprendente, por tanto, que se observen efectos similares en los potenciales de semionda polarográficos. Los datos de la Tabla 25-1 muestran claramente que el potencial de semionda para la reducción de un complejo metálico es generalmente más negativo que el correspondiente a la reducción del ion metálico solo. De hecho, este desplazamiento negativo en el potencial permite conocer la composición del ion complejo y determinar su constante de formación siempre que la reacción electroquímica sea reversible. Así, para las reacciones



y



Lingane¹¹ dedujo la siguiente relación entre las concentraciones molares del ligando c_L y el desplazamiento del potencial de semionda que tiene lugar por su presencia

$$(E_{1/2})_c - E_{1/2} = -\frac{0,0592}{n} \log K_f - \frac{0,0592x}{n} \log c_L \quad (25-21)$$

donde $(E_{1/2})_c$ y $E_{1/2}$ son los potenciales de semionda para los cationes complejados y no complejados, respectivamente, K_f es la constante de formación del complejo y x es la relación molar de combinación del agente complejante con el catión.

La Ecuación 25-21 hace posible evaluar la fórmula del complejo. Así, una representación del potencial de semionda frente al $\log c_L$, para diversas concentraciones de ligando, da una línea recta, la pendiente de la cual es $-0,0592x/n$. Si se conoce n , la relación de combinación del ligando con el ion metálico x se calcula fácilmente. La Ecuación 25-21 puede entonces utilizarse para calcular K_f .

Ventajas e inconvenientes del electrodo de gotas de mercurio

En el pasado, el electrodo de gotas de mercurio era el microelectrodo más ampliamente utilizado en

¹¹ J. J. Lingane, *Chem. Rev.*, **1941**, 29, 1.

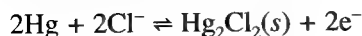
TABLA 25-1. Efecto de los agentes complejantes sobre los potenciales de semionda polarográficos en el electrodo de gotas de mercurio

Ion	Medios no complejantes	1 M KCN	1 M KCl	1 M NH ₃ , 1 M NH ₄ Cl
Cd ²⁺	-0,59	-1,18	-0,64	-0,81
Zn ²⁺	-1,00	NR *	-1,00	-1,35
Pb ²⁺	-0,40	-0,72	-0,44	-0,67
Ni ²⁺	—	-1,36	-1,20	-1,10
Co ²⁺	—	-1,45	-1,20	-1,29
Cu ²⁺	+0,02	NR *	+0,04	-0,24
			-0,22	-0,51

* No tiene lugar ninguna reducción antes de la del electrólito soporte.

voltamperometría debido a sus características únicas. La primera es su inusual elevado sobrepotencial asociado con la reducción de iones hidrógeno. Como consecuencia, los iones metálicos como el cinc y el cadmio se pueden depositar a partir de disoluciones ácidas a pesar de que sus potenciales termodinámicos sugieren que la deposición de estos metales es imposible sin formación de hidrógeno. Una segunda ventaja es que una nueva superficie metálica se está generando continuamente; de manera que el comportamiento del electrodo es independiente de su historia pasada. Por el contrario, los electrodos metálicos sólidos se destacan por su comportamiento irregular, que está relacionado con impurezas adsorbidas o depositadas. Una tercera característica inusual del electrodo de gotas, que ya ha sido descrita, es que se obtienen *inmediatamente* corrientes promedio reproducibles, a cualquier potencial dado, independientemente de si el potencial se alcanza desde posiciones más altas o más bajas.

Una seria limitación del electrodo de gotas es la facilidad con que el mercurio es oxidado; esta propiedad limita seriamente el uso del electrodo como ánodo. A potenciales mayores que +0,4 V, tiene lugar la formación de mercurio(I), dando una onda que enmascara las curvas de otras especies oxidables. En presencia de iones que formen precipitados o complejos con mercurio(I), este comportamiento tiene lugar incluso a potenciales más bajos. Por ejemplo, en la Figura 25-23, se puede ver el comienzo de una onda anódica a 0 V debido a la reacción



En algunas ocasiones, esta onda anódica se puede utilizar para la determinación de ion cloruro.

Otro importante inconveniente del electrodo de gotas de mercurio es la corriente residual no faradaica o de carga, que limita la sensibilidad del método clásico a concentraciones de aproximadamente 10^{-5} M. A concentraciones menores, la corriente residual es probable que sea mayor que la corriente de difusión, una situación que impide determinaciones exactas de esta última. Como se verá más tarde, actualmente hay métodos para mejorar los límites de detección en uno o dos órdenes de magnitud.

Finalmente, el electrodo de gotas de mercurio es de uso incómodo y tiende a funcionar mal debido a que se atasca. Un aspecto molesto del electrodo de gotas de mercurio es que a veces produce máximos de corriente como los que se muestran en la Figura 25-25. A pesar de que la causa o causas de los máximos no se conocen completamente, existe un considerable número de métodos empíricos para eliminarlos. Generalmente, la adición de trazas de una sustancia de elevado peso molecular como la gelatina, el Tritón X-100 (un agente comercial activo en las superficies o surfactante), el rojo de metilo u otros colorantes hacen desaparecer el máximo. Sin embargo, se han de evitar grandes cantidades de estos reactivos, ya que el exceso puede reducir la magnitud de la corriente de difusión. La cantidad adecuada de supresor debe ser determinada experimentalmente y la cantidad requerida varía mucho de un analito a otro.

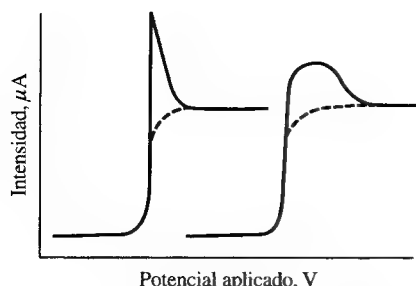


Figura 25-25. Típicos máximos de corriente obtenidos con un electrodo de gotas de mercurio.

Polarografía de muestreo de corriente (TAST)

Una modificación sencilla de la técnica de polarografía clásica y que incorporan los instrumentos voltamperométricos modernos, implica la medida de la intensidad de corriente sólo durante un periodo cercano al final de la vida de cada gota. Aquí, se utiliza generalmente un martillo mecánico para desprender la gota después de un intervalo de tiempo perfectamente reproducible (normalmente de 0,5 a 5 s). Debido a este hecho, el método se llama a veces polarografía *tast* (de alemán *tasten*, tocar). *Polarografía de muestreo de corriente* es más descriptivo que polarografía *tast* y por eso se prefiere, puesto que actualmente se utilizan dispositivos distintos del martillo mecánico para desprender la gota (véase, por ejemplo, Fig. 25-3d).

La Figura 25-26 compara la forma de un polarograma clásico y de uno de muestreo de corriente. Para obtener el último, el potencial se barrió linealmente a 5 mV/s. Sin embargo, en vez de registrar continuamente la corriente, ésta se muestreó tan sólo durante un período de 5 ms antes de la finalización de cada gota. Entre los periodos de muestreo, el registro se mantenía en su último valor de corriente mediante un circuito de muestreo y retención. Tal como se deduce de la figura, la mayor ventaja del muestreo de corriente es que reduce sustancialmente las grandes fluctuaciones de intensidad debidas al continuo crecimiento y caída de las gotas que tiene lugar en el electrodo de gotas. Obsérvese en la Figura 25-22 que la corriente cerca del final de la vida de una gota es casi constante y que sólo esta corriente es la que se registra en la técnica de muestreo de corriente. El resultado es una curva suavizada consistente en una serie de escalones, que son significativamente más pequeños que las fluctuaciones de corriente que se encuentran en la polarografía normal. La mejoras en la

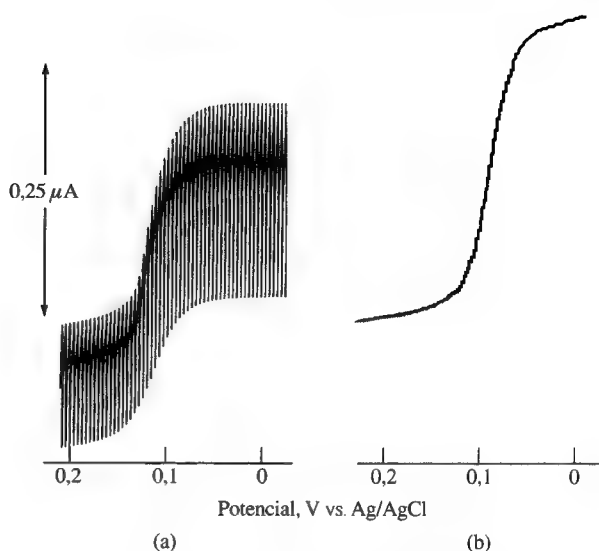


Figura 25-26. Comparación de ondas polarográficas: (a) clásica y (b) de muestreo de corriente, en una disolución 1×10^{-4} M de Cu^{2+} en NaNO_3 1 M. (Reproducido con autorización de A. M. Bond y D. R. Canterford, *Anal. Chem.*, 1972, 44, 721. Copyright 1972 American Chemical Society.)

precisión y en el límite de detección al muestrear la intensidad de corriente no son, desafortunadamente, tan grandes como cabría desear. Bond y Canterford¹² muestran que los límites de detección para el cobre tan sólo pueden disminuirse desde aproximadamente 3×10^{-6} M para la polarografía convencional a 1×10^{-6} M con el método de muestreo de corriente, un cambio poco importante en el mejor de los casos.

25E-2. Métodos polarográficos y voltamperométricos de impulsos

En los años sesenta, la polarografía de barrido lineal dejó de ser una herramienta analítica importante en la mayoría de los laboratorios. La razón del descenso en el uso de esta técnica, en otro tiempo popular, no fue sólo la aparición de diversos métodos espectroscópicos más adecuados, sino también los inconvenientes inherentes al método, entre ellos la lentitud, la utilización de instrumentos poco adecuados y, sobre todo, los deficientes límites de detección. Estas limitaciones se han su-

¹² A. M. Bond y D. R. Canterford, *Anal. Chem.*, 1972, 44, 721.

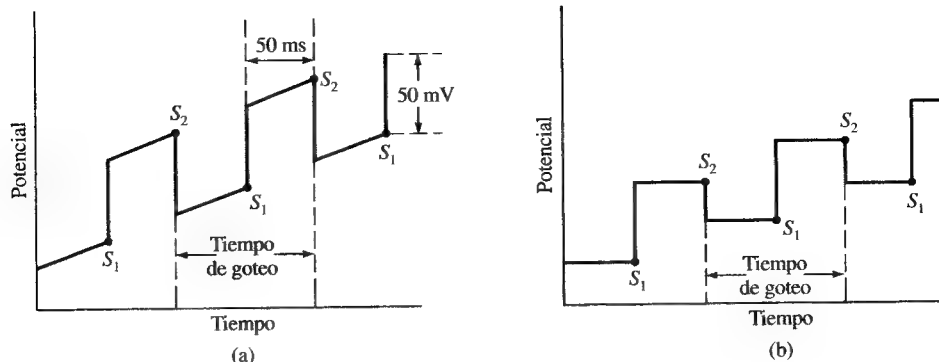


Figura 25-27. Señales de excitación empleadas en polarografía diferencial de impulsos.

perado con creces con métodos de impulsos y con el desarrollo de electrodos tales como los que se muestran en la Figura 25-3d. Se tratarán las dos técnicas de impulsos más importantes, la *polarografía diferencial de impulsos* y la *polarografía de onda cuadrada*. Ambos métodos se han aplicado también con electrodos diferentes del electrodo de gotas de mercurio, en tales casos los procedimientos se llaman *voltamperometría diferencial de impulsos* y *de onda cuadrada*. La idea detrás de todos los métodos polarográficos de impulsos es medir la intensidad en el momento en el que la diferencia entre la curva faradaica deseada y la corriente de carga que interfiere sea grande.

Polarografía diferencial de impulsos

La Figura 25-27 muestra las dos señales de excitación más comunes que se utilizan en los instrumentos comerciales de polarografía diferencial de impulsos. La primera (27a), se utiliza en los instrumentos analógicos y se obtiene superponiendo un impulso periódico a un barrido lineal. La segunda (27b), se utiliza normalmente en instrumentos digitales e implica la combinación de una señal de salida de impulsos con una señal de escalera. En ambos casos, se aplican impulsos de 50 mV durante los últimos 50 ms de la vida de la gota de mercurio. Aquí de nuevo, para sincronizar el impulso con la gota, ésta se desprende en el momento adecuado por un medio mecánico.

Como se muestra en la Figura 25-27, se hacen alternativamente dos medidas de intensidad de corriente, una (a S_1) se efectúa 16,7 ms antes de aplicar el impulso y otra (a S_2) 16,7 ms antes de acabar el impulso. La *diferencia de intensidad por impul-*

so (Δi) se registra en función del potencial que aumenta linealmente. Así se obtiene una curva diferencial en forma de pico (véase Fig. 25-28) la altura del cual es directamente proporcional a la concentración. Para una reacción reversible, el potencial del pico es aproximadamente igual al potencial estándar de la semirreacción.

Una ventaja de los polarogramas tipo derivada es que se pueden observar máximos de picos individuales para sustancias que tienen potenciales de semionda que difieren en tan sólo 0,04 o 0,05 V; en cambio, la polarografía clásica o la normal de impulsos requieren una diferencia de potenciales de aproximadamente 0,2 V para la resolución de las ondas. Sin embargo, lo más importante es que la polarografía diferencial de impulsos aumenta la sensibilidad del método polarográfico. Este aumento se ilustra en la Figura 25-29. Obsérvese que un polarograma clásico para una disolución que contiene 180 ppm del antibiótico tetraciclina da dos ondas apenas discernibles y, por el contrario, la polarografía diferencial de impulsos proporciona picos bien definidos a un nivel de concentración que es 2×10^{-3} el de la onda clásica, es decir 0,36 ppm.

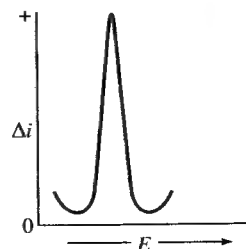
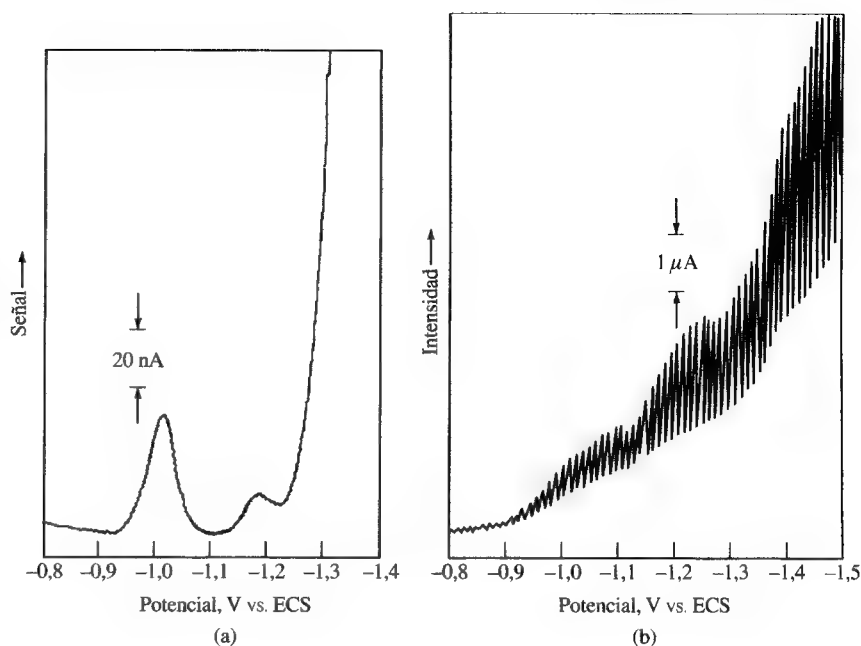


Figura 25-28. Voltamperograma de polarografía diferencial de impulsos. Aquí, $\Delta i = i_{S_2} - i_{S_1}$ (véase Fig. 25-27).

Figura 25-29. (a) Polarograma diferencial de impulsos: 0,36 ppm de clorhidrato de tetraciclina en tampón acetato 0,1 M, pH 4; analizador polarográfico PAR Modelo 174, electrodo de gotas de mercurio, amplitud de impulso 50 mV, tiempo de gota 1 s. (b) Polarograma DC: 180 ppm de clorhidrato de tetraciclina en tampón acetato 0,1 M, pH 4 y condiciones similares. (Reproducido con autorización de J. B. Flato, *Anal. Chem.*, **1972**, 44(11), 75A. Copyright 1972 American Chemical Society.)



Obsérvese también que la escala de intensidad para Δi está en nanoamperios. Generalmente, los límites de detección con polarografía diferencial de impulsos son dos o tres órdenes de magnitud más bajos que los de la polarografía clásica y se encuentran en el intervalo de 10^{-7} a 10^{-8} M.

La mayor sensibilidad de la polarografía diferencial de impulsos se puede atribuir a dos fuentes. La primera es el aumento de la corriente faradaica, mientras que la segunda es la disminución de la corriente de carga no faradaica. En relación con la primera, hay que considerar los hechos que tienen lugar en la capa superficial que rodea a un electrodo cuando se aumenta de repente el potencial en 50 mV. Si una especie reactiva está presente en esta capa, se producirá un aumento de la intensidad que hará disminuir la proporción del reactante en la proporción que requiera el nuevo potencial (véase Figura 25-7b). Cuando se alcanza la concentración de equilibrio para este potencial, sin embargo, la intensidad cae a un nivel suficiente para contrarrestar la difusión; esto es, a la corriente controlada por difusión. En polarografía clásica, no se observa el aumento inicial de intensidad debido a que la escala de tiempo de la medida es grande respecto al tiempo de vida de la corriente momentánea. En cambio, en polarografía de impulsos, la medida de la corriente se hace antes de que el aumento haya acabado completamente. Por tanto, la corriente

medida contiene tanto una componente controlada por difusión como una componente que es debida a la reducción de la concentración en la capa superficial a la demandada por la ecuación de Nernst; la corriente total es normalmente varias veces mayor que la corriente de difusión. Hay que señalar que cuando la gota se desprende, la disolución se vuelve otra vez homogénea respecto al analito y, en consecuencia, a cualquier potencial dado, se observa el mismo aumento de intensidad para cada impulso de potencial.

Cuando el impulso de potencial se aplica al electrodo, también tiene lugar un aumento de la corriente no faradaica cuando la carga de la gota aumenta. Esta corriente, sin embargo, decae exponencialmente con el tiempo y se aproxima a cero cerca del final de la vida de la gota cuando su área superficial cambia sólo ligeramente (véase Fig. 25-22). Por tanto, midiendo las corrientes tan sólo en este momento, la corriente residual no faradaica se reduce mucho y la relación señal-ruido es mayor, por tanto, resulta un aumento de la sensibilidad.

Actualmente están disponibles comercialmente instrumentos para polarografía diferencial de impulsos que son fiables y de coste razonable. Así, este método ha llegado a ser el procedimiento polarográfico analítico más ampliamente utilizado, y es especialmente útil para la determinación de concentraciones traza de iones de metales pesados.

Polarografía de onda cuadrada¹³

La polarografía de onda cuadrada es un tipo de polarografía de impulsos que ofrece la ventaja de una gran velocidad y una elevada sensibilidad. Un voltamperograma completo se obtiene en menos de 10 ms. Con un electrodo de gotas de mercurio, el barrido se lleva a cabo durante los últimos milisegundos de la vida de una única gota, cuando la intensidad de corriente de carga es esencialmente constante. La voltamperometría de onda cuadrada también ha sido utilizada con electrodos de mercurio de gota colgante y en detectores cromatográficos.

La Figura 25-30c muestra la señal de excitación en voltamperometría de onda cuadrada, que se obtiene superponiendo el tren de impulsos que se muestra en la Figura 25-30b sobre la señal escalonada de 25-30a. La longitud de cada etapa de la escalera y el periodo de los impulsos (τ) son idénticos y normalmente de unos 5 ms. La amplitud del potencial de la escalera ΔE_s es normalmente 10 mV. La magnitud del impulso $2E_{sw}$ es a menudo de 50 mV. Operando en estas condiciones, que corresponden a una frecuencia del impulso de 200 Hz, un barrido de 1 V requiere 0,5 s. En una reacción de reducción reversible, el tamaño de un impulso es suficientemente elevado como para que tenga lugar la oxidación del producto formado en el impulso directo, durante el impulso inverso. Tal como se muestra en la Figura 25-31, el impulso directo produce una corriente catódica i_1 , mientras que el impulso inverso da una corriente anódica i_2 . Normalmente se representa la diferencia entre estas corrientes Δi para dar los voltamperogramas. Esta diferencia es directamente proporcional a la concentración, y el potencial del pico corresponde al potencial de semionda polarográfico. Debido a la velocidad de la medida, es posible y también práctico aumentar la precisión del análisis haciendo un promediado de los datos de varios barridos voltamperométricos. Se han publicado límites de detección para voltamperometría de onda cuadrada de 10^{-7} a 10^{-8} M.

Desde fechas recientes se dispone de instrumentos de diferente fuentes comerciales para voltamperometría de onda cuadrada y, en consecuencia, parece probable que esta técnica alcance un

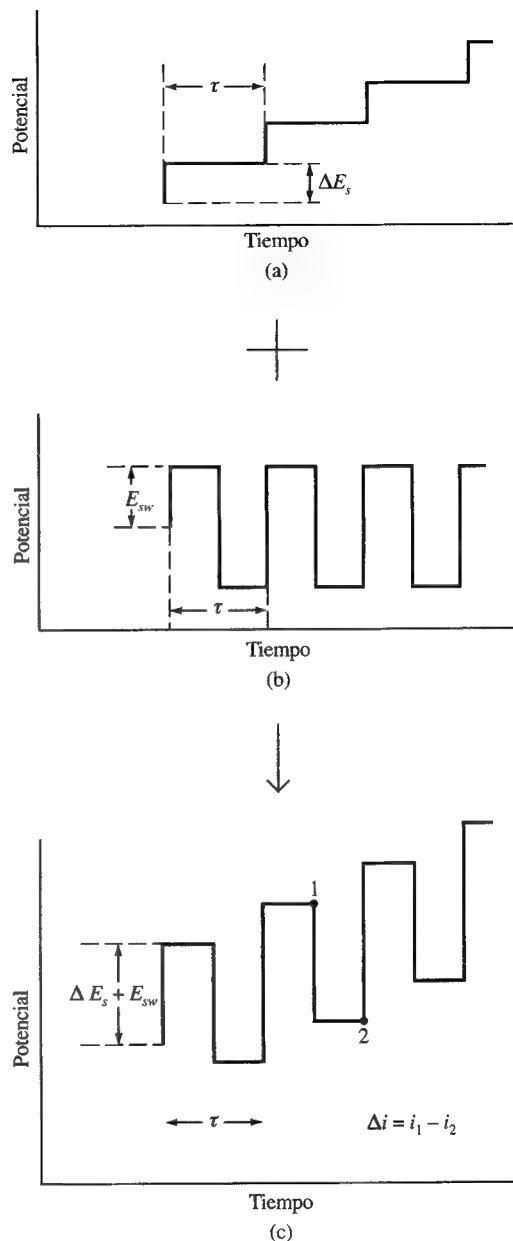


Figura 25-30. Generación de una señal de excitación para voltamperometría de onda cuadrada. La señal en escalera de (a) se suma a un tren de impulsos de (b) para dar la señal de excitación de onda cuadrada de (c). La respuesta de intensidad Δi es igual a la diferencia de intensidades a los potenciales 1 y 2.

uso considerable en análisis de especies orgánicas e inorgánicas. Se ha sugerido también que la voltamperometría de onda cuadrada se puede utilizar en detectores para HPLC.

¹³ Para una información más detallada de la voltamperometría de onda cuadrada, véase J. G. Osteryoung y R. A. Osteryoung, *Anal. Chem.*, **1985**, *57*, 101A.

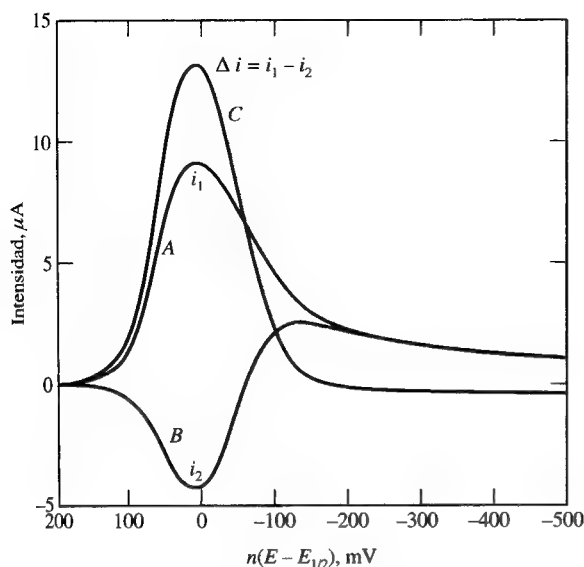


Figura 25-31. Respuesta de corriente para un reacción reversible a la señal de excitación de la Figura 25-30. A: corriente directa i_1 . B: corriente inversa i_2 . C: diferencia de corrientes $i_1 - i_2$. (Reproducido con autorización de J. J. O'Dea, J. Osteryoung, y R. A. Osteryoung, *Anal. Chem.*, **1981**, 53, 695. Copyright 1981 American Chemical Society.)

25E-3. Aplicaciones de la polarografía

En el pasado, la polarografía de barrido lineal se utilizó para la determinación cuantitativa de una amplia variedad de especies inorgánicas y orgánicas, incluyendo moléculas de interés biológico y bioquímico. En la actualidad, los métodos de impulsos han sustituido casi completamente al método clásico debido a su mayor sensibilidad, adecuación y selectividad. Generalmente las aplicaciones cuantitativas se basan en la obtención de curvas de calibrado en las que se representan las alturas de los picos en función de la concentración del analito. En algunos casos se utiliza el método de adición estándar en vez de las curvas de calibrado. En ambos casos, es esencial que la composición de los patrones sea lo más parecida posible a la composición de la muestra, tanto en las concentraciones de electrolitos como en el pH; en estos casos, se pueden obtener a menudo precisiones y exactitudes relativas en el intervalo del 1 al 3 por 100.

Aplicaciones inorgánicas

Los métodos polarográficos son ampliamente aplicables para el análisis de sustancias inorgánicas. La mayoría de los cationes metálicos, por ejemplo, se

reducen en el electrodo de gotas de mercurio. Incluso los metales alcalinos y alcalino térreos se reducen, a condición de que el electrolito soporte no reaccione a los elevados potenciales requeridos; en este caso se emplean haluros de tetraalquilamonio como electrolito debido a sus elevados potenciales de reducción.

La determinación polarográfica de cationes depende del electrolito soporte que se utiliza, y para ayudar a la selección, se utilizan recopilaciones de datos de potenciales de semionda¹⁴. La elección adecuada del anión exalta a menudo la selectividad del método, por ejemplo, con cloruro de potasio como electrolito soporte, las ondas del hierro(III) y del cobre(II) interfieren entre sí; en un medio de fluoruros, sin embargo, el potencial de semionda del primero se desplaza unos $-0,5$ V, mientras que el último se altera sólo unas centésimas de voltio. La presencia de fluoruros da lugar por tanto a la aparición de ondas bien separadas de los dos iones.

El método polarográfico es también aplicable al análisis de aniones inorgánicos tales como el bromato, iodato, dicromato, vanadato, selenito y nitrito. En general los polarogramas de estas sustancias están afectados por el pH de la disolución, ya que el ion hidrógeno participa en su reducción. Como consecuencia, es necesario utilizar un tampón que fije el pH para obtener resultados reproducibles (véase apartado siguiente)

Análisis polarográfico orgánico

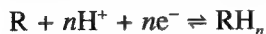
Casi desde sus comienzos, la polarografía se ha utilizado para el estudio y determinación de compuestos orgánicos y se pueden encontrar muchos artículos dedicados a este tema. Diversos grupos funcionales comunes se pueden reducir en el electrodo de gotas, haciendo así posible la determinación de una amplia variedad de compuestos orgánicos¹⁵. Sin embargo, el número de grupos funcionales que se puede oxidar en un electrodo de gotas de mercurio es relativamente limitado, ya que no se pueden utilizar potenciales anódicos mayores de $+0,4$ V (vs. ECS) debido a la oxidación del mercurio. Sin embargo, los gru-

¹⁴ Por ejemplo, véase *Handbook of Analytical Chemistry*, L. Meites, Ed. New York: McGraw-Hill, 1963; D. T. Sawyer, A. Sobkowiak y J. L. Roberts, *Experimental Electrochemistry for Chemists*, 2.^a ed., págs. 102-130. New York: Wiley, 1995.

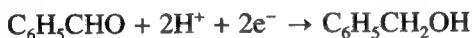
¹⁵ Para un tratamiento detallado de análisis polarográfico orgánico, véase P. Zuman, *Organic Polarographic Analysis*. Oxford: Pergamon Press, 1964 y *Topics in Organic Polarography*, P. Zuman, Ed. New York: Plenum Press, 1970.

pos funcionales orgánicos oxidables pueden estudiarse voltamperométricamente con microelectrodos de platino, oro o carbón.

Efecto del pH en los polarogramas. Los procesos electródicos orgánicos implican normalmente iones hidrógeno, la reacción típica se representa por



donde R y RH_n son las formas oxidada y reducida de una molécula orgánica. Por tanto, los potenciales de semionda de los compuestos orgánicos son marcadamente dependientes del pH. Además, la modificación del pH puede dar lugar a un cambio en el producto de reacción. Por ejemplo, cuando se reduce el benzaldehído en una disolución básica, se obtiene una onda a aproximadamente $-1,4$ V, atribuida a la formación de alcohol bencílico.



Sin embargo, si el pH es inferior a 2 aparece una onda a aproximadamente $-1,0$ V cuyo tamaño es la mitad de la anterior; en este caso, la reacción implica la formación de hidroxibenzoina.



A pH intermedios, se observan dos ondas, que indican la simultaneidad de ambas reacciones.

Debería resaltarse que un proceso electródico que consume o produce iones hidrógeno altera el pH de la disolución *en la superficie del electrodo*, a menudo drásticamente, a menos que la disolución esté bien tamponada. Estos cambios afectan al potencial de reducción de la reacción y provocan ondas alargadas pobremente definidas. Por otra parte, cuando el proceso electródico está alterado por el pH, como en el caso del benzaldehído, no se encuentra una relación lineal corriente de difusión/concentración. De modo que en polarografía orgánica es imprescindible tamponar adecuadamente la disolución para obtener potenciales de semionda y corrientes de difusión reproducibles.

Disolventes para polarografía orgánica. Frecuentemente en polarografía orgánica los problemas de solubilidad obligan a utilizar disolventes diferentes al agua; así, se han utilizado mezclas acuosas que contienen cantidades variables de disolventes miscibles tales como glicoles, dioxano,

acetonitrilo, alcoholes, Cellosolve o ácido acético. También se han investigado medios anhidros tales como ácido acético, formamida, dietilamina y etilenglicol. Los electrólitos soporte son a menudo sales de litio o de tetraalquilamonio.

Grupos funcionales reactivos. Los compuestos orgánicos que contienen cualquiera de los siguientes grupos funcionales pueden producir una o más ondas polarográficas.

1. **El grupo carbonilo**, que incluye aldehídos, cetonas y quinonas, da lugar a ondas polarográficas. En general, los aldehídos se reducen a potenciales menores que las cetonas; la conjugación de los enlaces dobles carbonílicos también aparece a potenciales de semionda más bajos.
2. **Ciertos ácidos carboxílicos** se reducen polarográficamente, aunque los ácidos monocarboxílicos sencillos alifáticos y aromáticos no lo hacen. Los ácidos dicarboxílicos como el ácido fumárico, el maleico o el ftálico, en los que los grupos carboxílicos están conjugados entre sí, dan polarogramas característicos; lo mismo pasa con ciertos cetoácidos y aldoácidos.
3. **La mayoría de los peróxidos y epóxidos** dan polarogramas.
4. **Los grupos nitro, nitroso, óxido de amina y azo** se reducen normalmente en el electrodo de gotas.
5. **La mayoría de los grupos orgánicos halogenados** dan lugar a una onda polarográfica, que resulta de la sustitución del grupo halogenado por un átomo de hidrógeno.
6. **El doble enlace carbono/carbono** se reduce cuando está conjugado con otro doble enlace, un anillo aromático o un grupo insaturado.
7. **Las hidroquinonas y los mercaptanos** dan lugar a ondas anódicas.

Además, un cierto número de grupos orgánicos dan lugar a ondas catalíticas de hidrógeno que se pueden utilizar para el análisis. Entre éstos se incluyen aminas, mercaptanos, ácidos y compuestos heterocíclicos con nitrógeno. Se han descrito numerosas aplicaciones de este tipo de ondas en sistemas biológicos¹⁶.

¹⁶ M. Brezina y P. Zuman, *Polarography in Medicine, Biochemistry and Pharmacy*. New York: Interscience, 1958; *Polarography of Molecules of Biological Significance*, W. F. Smyth, Ed. New York: Academic Press, 1979.

25F. MÉTODOS DE REDISOLUCIÓN

Los métodos de redisolución engloban una variedad de procedimientos electroquímicos que tienen una etapa inicial característica común¹⁷. En todos estos procedimientos, primero se deposita el analito sobre un microelectrodo, normalmente desde una disolución agitada. Después de un tiempo perfectamente medido, se para la electrólisis y la agitación, y el analito depositado se determina por uno de los procedimientos voltamperométricos que se han descrito en la sección previa. Durante esta segunda etapa del análisis, el analito depositado en el microelectrodo se redisuelve; lo que da nombre a estos métodos. En los *métodos de redisolución anódica*, el microelectrodo se comporta como un cátodo durante la etapa de deposición y como un ánodo durante la etapa de redisolución en la que el analito se reoxida volviendo a su estado original. En un *método de redisolución catódica*, el microelectrodo se comporta como un ánodo durante la etapa de deposición y como un cátodo durante la etapa de redisolución. La etapa de deposición equivale a una preconcentración electroquímica del analito; esto es, la concentración del analito en la superficie del microelectrodo es mucho mayor que en el seno de la disolución. Como resultado de la etapa de preconcentración, los métodos de redisolución presentan los límites de detección más bajos de todos los procedimientos voltamperométricos. Por ejemplo, la redisolución anódica con polarografía de impulsos puede alcanzar límites de detección del orden de nM para especies medioambientales de importancia, tales como Pb^{2+} , Ca^{2+} y Ti^{+} .

La Figura 25-32a ilustra el programa de potencial aplicado que se sigue en un método de redisolución anódica para la determinación de cobre y cadmio en una disolución acuosa de estos iones. Para completar el análisis se utiliza un método voltamperométrico de barrido lineal. Inicialmente, se aplica al microelectrodo un potencial catódico constante de aproximadamente -1 V , el cual provoca que tanto los iones cadmio como los iones cobre se reduzcan y depositen como metales. El electrodo se mantiene a este potencial durante varios minutos hasta que se acumule en el electrodo

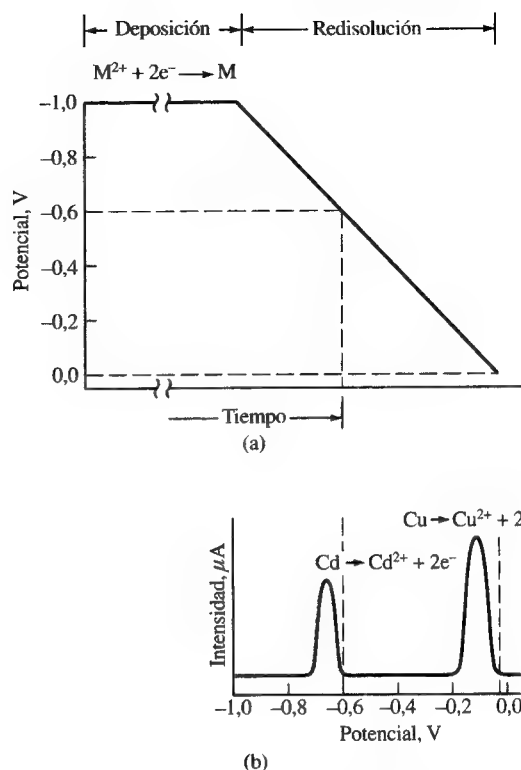


Figura 25-32. (a) Señal de excitación para la determinación por redisolución de Cd^{2+} y Cu^{2+} . (b) Voltamperograma de redisolución.

una cantidad significativa de los dos metales. En ese momento se para la agitación durante unos 30 s manteniéndose el electrodo a -1 V . Seguidamente, el potencial del electrodo disminuye linealmente hacia potenciales menos negativos mientras que se registra la intensidad de corriente de la celda en función del tiempo, o del potencial. La Figura 25-32b muestra el voltamperograma resultante. A un potencial algo más negativo que $-0,6\text{ V}$, empieza a oxidarse el cadmio, originando un aumento brusco en la intensidad. Mientras se consume el depósito de cadmio, la intensidad alcanza un máximo y después disminuye a su nivel original. Seguidamente se observa un segundo pico, cuando el potencial ha disminuido hasta aproximadamente $-0,1\text{ V}$, que corresponde a la oxidación del cobre. Las alturas de los dos picos son proporcionales a los pesos de metal depositado.

Los métodos de redisolución son de gran importancia en análisis de trazas ya que el efecto de concentración de la electrólisis permite la determinación de cantidades muy pequeñas de un analito con una exactitud razonable. Así, se hace posible el

¹⁷ Para un tratamiento detallado sobre los métodos de redisolución, véase J. Wang, *Stripping Analysis*. Deerfield Beach, FL: VCH Publishers, 1985; A. M. Bond, *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*, Capítulo 9. New York: Marcel Dekker, 1980.

análisis de disoluciones de concentraciones comprendidas entre 10^{-6} y 10^{-9} M mediante métodos que son a la vez sencillos y rápidos.

25F-1. Etapa de electrodeposición

Normalmente, durante la etapa de electrodeposición sólo se deposita una fracción del analito; por ello, los resultados cuantitativos dependen no sólo del control del potencial del electrodo sino también de factores tales como el tamaño del electrodo, la duración de la deposición y de la velocidad de agitación tanto de las disoluciones de la muestra como de las de los patrones utilizados en el calibrado.

Los microelectrodos que se utilizan en los métodos de redisolución se elaboran a partir de diversos materiales entre los que se encuentran el mercurio, el oro, la plata, el platino y el carbón en diversas formas. El electrodo más popular es el *electrodo de gota colgante de mercurio* (HMDE), que consiste en una única gota de mercurio en contacto con un alambre de platino. Los electrodos de gota colgante se pueden obtener en varias casas comerciales. Estos electrodos constan, a menudo, de una microjeringa con un tornillo micrométrico que permite el control exacto del tamaño de la gota. La gota se forma en el extremo del capilar por desplazamiento del mercurio en la jeringa suministradora controlada externamente (véase Fig. 25-3b). El sistema que se muestra en la Figura 25-3d es también capaz de producir un electrodo de gota colgante.

Para llevar a cabo la determinación de un ion metálico por redisolución anódica, se forma una nueva gota de mercurio, se inicia la agitación y se aplica un potencial que es unas décimas de voltio más negativo que el potencial de semionda del ion de interés. La deposición tiene lugar durante un período de tiempo cuidadosamente medido que puede oscilar entre un minuto o algo menos para disoluciones de 10^{-7} M y 30 min o algo más para disoluciones de 10^{-9} M. Hay que resaltar que estos tiempos rara vez dan lugar a una eliminación completa del ion. El período de electrólisis se determina en función de la sensibilidad del método utilizado posteriormente para la realización del análisis.

25F-2. Etapa voltamperométrica del análisis

El analito acumulado en el electrodo de gota colgante puede determinarse por cualquiera de los

distintos procedimientos voltamperométricos. Por ejemplo, con un procedimiento de barrido anódico lineal, tal como el descrito al principio de esta sección, una vez finalizada la deposición, se para la agitación durante unos 30 s. El potencial se disminuye entonces a una velocidad lineal fija desde su valor catódico inicial y la intensidad de corriente anódica resultante se registra en función del potencial aplicado. Este barrido lineal da una curva como la que se muestra en la Figura 25-32b. Los análisis de este tipo se basan, generalmente, en el calibrado con disoluciones patrón de los cationes de interés. Con razonables precauciones, se pueden obtener precisiones relativas de alrededor de un 2 por 100.

La mayor parte de los procedimientos voltamperométricos descritos en la sección previa se han aplicado en la etapa de redisolución aunque de todos ellos el más utilizado es el método diferencial de impulsos anódico. Por este procedimiento se obtienen, a menudo, picos más estrechos, que son especialmente convenientes cuando se han de analizar mezclas. Otro método para obtener picos estrechos es utilizar un electrodo de película de mercurio. En este caso, una fina película de mercurio se deposita sobre un microelectrodo inerte tal como carbono vitrificado. Normalmente, la deposición del mercurio se lleva a cabo simultáneamente con la deposición del analito. Debido a que la longitud promedio de la trayectoria de difusión desde la película a la interfase con la disolución es mucho más corta que en un electrodo de gotas, se acelera la salida del analito; como consecuencia, los picos voltamperométricos son más estrechos y más altos, lo que proporciona mayor sensibilidad y mejor resolución de mezclas. Por otra parte, el electrodo de gotas de mercurio parece dar resultados más reproducibles, especialmente a concentraciones elevadas de analito. Por tanto, para la mayoría de las aplicaciones se utiliza un electrodo de gota colgante. La Figura 25-33 muestra el polarograma de redisolución anódica diferencial de impulsos de una mezcla de cationes que se encuentran a una concentración de 25 ppb mostrando una buena resolución y una sensibilidad adecuada para muchas aplicaciones.

Se han desarrollado muchas otras variaciones de la técnica de redisolución. Por ejemplo, algunos cationes se han determinado por electrodeposición en un cátodo de platino. En este caso se mide coulombimétricamente la cantidad de electricidad requerida para eliminar el depósito. De nuevo, el método es particularmente ventajoso para análisis de

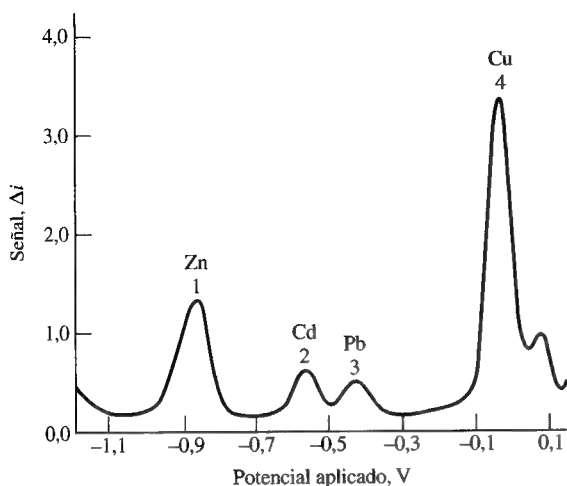


Figura 25-33. Voltamperograma de redisolución anódica diferencial de impulsos de 25 ppm de cinc, cadmio, plomo y cobre. (Reproducido con permiso de W. M. Peterson y R. V. Wong, Amer. Lab., 1981, 13(11), 116. Copyright 1981 por International Scientific Communications, Inc.)

trazas. También se han desarrollado métodos de redisolución catódica para los haluros. En este caso, los iones haluro se depositan primero como sales de mercurio(I) sobre un ánodo de mercurio. La redisolución se lleva a cabo a continuación mediante un barrido catódico.

25F-3. Métodos de redisolución adsortivos

Los métodos de redisolución adsortivos son muy similares a los métodos de redisolución anódica y catódica hasta ahora considerados. En este caso, un microelectrodo, la mayoría de las veces un electrodo de gota colgante de mercurio, se sumerge durante varios minutos en una disolución agitada que contiene el analito. La deposición de éste tiene lugar por adsorción física sobre la superficie del electrodo en lugar de por deposición electrolítica. Una vez que se ha acumulado suficiente analito, se para la agitación y el material depositado se determina por medidas voltamperométricas de barrido lineal o de impulsos. La información cuantitativa se obtiene mediante el calibrado con disoluciones patrón que se tratan de la misma forma que las muestras.

Muchas moléculas orgánicas de interés clínico y farmacéutico tienen una fuerte tendencia a ser adsorbidas sobre la superficie del mercurio, desde las disoluciones acuosas, en particular si esta su-

perficie se mantiene a aproximadamente $-0,4$ V (vs. ECS) al cual la carga del mercurio es cero (página 712). Con una buena agitación, la adsorción es rápida y sólo se necesitan de 1 a 5 min para acumular el analito suficiente para el análisis de disoluciones 10^{-7} M y de 10 a 20 min para el de disoluciones 10^{-9} M. La Figura 25-34 ilustra la sensibilidad de la voltamperometría de redisolución adsortiva diferencial de impulsos cuando se aplica a la determinación de riboflavina en una disolución 5×10^{-10} M. Muchos otros ejemplos de este tipo se pueden encontrar en la literatura reciente.

La voltamperometría de redisolución adsortiva se ha aplicado también a la determinación de una variedad de cationes inorgánicos a concentraciones muy bajas. En estas aplicaciones los cationes son generalmente complejados por un agente complejante con actividad superficial, tal como la dimetilglioxima, el catecol o la bipyridina. Se han alcanzado límites de detección del orden de 10^{-10} a 10^{-11} M.

25G. VOLTAMPEROMETRÍA CON ULTRAMICROELECTRODOS

Durante la última década, se han llevado a cabo varios estudios voltamperométricos con microelectrodos de dimensiones inferiores, al menos en un orden de magnitud, a las de los microelectrodos

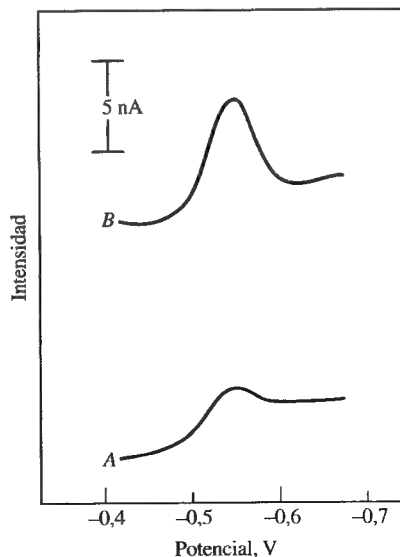


Figura 25-34. Voltamperograma diferencial de impulsos de la riboflavina 5×10^{-10} M. Preconcentraciones adsortivas durante: (A) 5 min y (B) 30 min a $-0,2$ V.

descritos anteriormente. El comportamiento electroquímico de estos diminutos electrodos es significativamente diferente del de los microelectrodos clásicos y parecen presentar ventajas en ciertas aplicaciones analíticas¹⁸. Estos electrodos se suelen llamar *electrodos microscópicos* o *ultramicroelectrodos*, para distinguirlos de los microelectrodos clásicos. Las dimensiones de estos electrodos son generalmente menores de 20 μm y pueden ser tan pequeños como unas décimas de micrómetro. Como se muestra en la Figura 25-35, estos microelectrodos en miniatura pueden tener diversas formas. La más común es un electrodo plano que se consigue sellando una fibra de carbono de 5 μm de radio o un hilo de oro o de platino con unas dimensiones de 0,3 a 20 μm , a un tubo capilar fino; la fibra o los hilos se cortan al nivel de la superficie aisladora en el extremo de los tubos. También se han utilizado los electrodos cilíndricos, en los cuales una pequeña porción del hilo metálico sobresale del extremo del tubo. Esta geometría tiene la ventaja de generar mayores corrientes pero la desventaja de ser frágiles y difíciles de limpiar y pulir. Los electrodos de bandas son atractivos porque pueden fabricarse en una escala de nanómetros en una dimensión y su comportamiento está determinado por esta dimensión salvo que la magnitud de sus corrientes aumenta con la longitud. Los electrodos de este tipo con anchuras de 20 Å se construyen colocando la película metálica en *sandwich* entre aislantes de vidrio o epoxi. Los ultramicroelectrodos de mercurio se consiguen por electrodeposición del metal sobre electrodos de disco metálicos o de carbón.

Generalmente, con los ultramicroelectrodos no es necesario utilizar el sistema de tres electrodos empleado en voltamperometría convencional debido a que las intensidades son tan pequeñas (del orden de los picoamperios a nanoamperios) que la caída *IR* no distorsiona las ondas voltamperométricas del modo que lo hacen las intensidades de microamperios. Las bajas intensidades también hacen posible las medidas voltamperométricas en medios de alta resistencia y disolventes no acuosos, como los que se utilizan en cromatografía líquida de alta eficacia en fase normal.

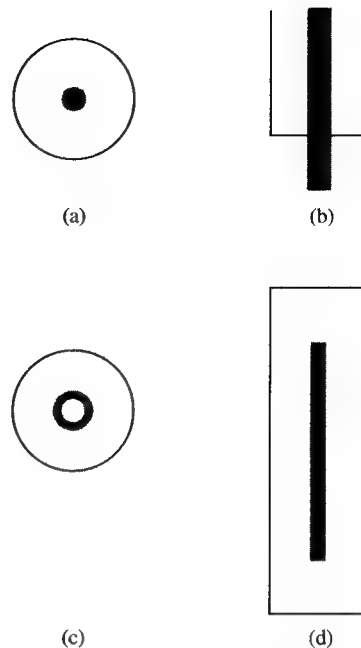


Figura 25-35. Algunas configuraciones características de ultramicroelectrodos. (a) Electrodo de disco (vista del extremo); (b) electrodo cilíndrico (vista lateral); (c) electrodo de anillo (vista del extremo); (d) electrodo de banda (vista del extremo). En cada caso la zona oscurecida representa un conductor metálico o de carbón. Las zonas claras son aislantes.

Una de las razones del reciente interés por los microelectrodos microscópicos ha sido el deseo de estudiar los procesos químicos que se dan en el interior de los órganos de especies vivas, tales como los cerebros de los mamíferos. Un modo de enfocar este problema es utilizar electrodos lo suficientemente pequeños para que no provoquen alteraciones significativas en la función del órgano. Uno de los resultados de estos estudios ha puesto de manifiesto que los ultramicroelectrodos tienen ciertas ventajas que justifican su aplicación en otros tipos de problemas analíticos. Entre estas ventajas se encuentra la pequeña pérdida *IR*, que hace que estos electrodos se puedan utilizar con disolventes de baja constante dieléctrica, tales como el tolueno. En segundo lugar, las corrientes de carga capacitivas, que a menudo limitan la detección en los microelectrodos normales, se reducen hasta proporciones insignificantes cuando disminuye el tamaño del electrodo porque la capacitancia del electrodo disminuye cuando la superficie del electrodo se hace más pequeña. En tercer lugar, la velocidad de

¹⁸ Véase R. M. Wightman, *Science*, **1988**, 240, 415; *Anal. Chem.*, **1981**, 53, 1325A; J. Heinze, *Agnew. Chem., Int. Ed.*, **1993**, 32, 1268; R. M. Wightman y D. O. Wipf, en *Electroanalytical Chemistry*, Volumen XV, A. J. Bard, Ed. New York: Marcel Dekker, 1989.

transporte de masa hacia y desde el electrodo aumenta a medida que el tamaño del electrodo disminuye; y, como consecuencia, las intensidades de estado estacionario se establecen en disoluciones no agitadas en menos de un microsegundo en lugar de en milisegundos o superiores como

ocurre con los microelectrodos clásicos. Estas medidas a muy alta velocidad permiten el estudio de intermedios de reacción en reacciones electroquímicas rápidas. Indudablemente, en el futuro se verán muchas más aplicaciones de estos ultramicroelectrodos.

25H. CUESTIONES Y PROBLEMAS

25-1. Diferenciar entre

- Voltamperometría y polarografía.
- Polarografía de barrido lineal y polarografía de impulsos.
- Polarografía diferencial de impulsos y polarografía de onda cuadrada.
- Electrodos de mercurio de gota colgante y electrodos de gotas de mercurio.
- Corriente límite y corriente residual.
- Corriente límite y corriente de difusión.
- Flujo laminar y flujo turbulento.
- El potencial estándar del electrodo y el potencial de semionda para una reacción reversible en un microelectrodo.
- Métodos de redisolución normales y métodos de redisolución adsortiva.

25-2. Definir

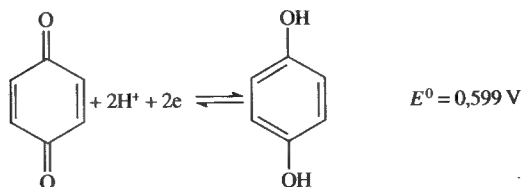
- Voltamperograma.
- Voltamperometría hidrodinámica.
- Capa de difusión de Nernst.
- Electrodo de película de mercurio.
- Potencial de semionda.

25-3. ¿Por qué es necesario tamponar las disoluciones en voltamperometría orgánica?

25-4. Enumerar las ventajas y los inconvenientes del electrodo de gotas de mercurio, comparándole con los microelectrodos de platino o de carbón.

25-5. Sugerir cómo se podría utilizar la Ecuación 25-13 para determinar el número de electrones n implicados en una reacción reversible en un microelectrodo.

25-6. La quinona experimenta una reducción reversible en un electrodo de gotas de mercurio. La reacción es



- Suponer que los coeficientes de difusión de la quinona y la hidroquinona son aproximadamente los mismos y calcular el potencial de semionda aproximado (vs. ECS) para la reducción de la hidroquinona en un electrodo de disco rotatorio en una disolución tamponada a pH 7,0.
- Repetir el cálculo de (a) para una disolución tamponada a pH 5,0.

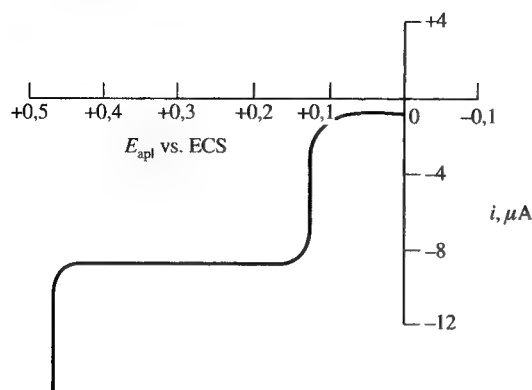
- 25-7. ¿Cuáles son las causas de la corriente residual en polarografía de barrido lineal? ¿Por qué las corrientes residuales son más pequeñas en la polarografía de muestreo de corriente?
- 25-8. El polarograma correspondiente a 20,0 mL de una disolución $3,65 \times 10^{-3}$ M en Cd^{2+} dio una onda para este ion con una corriente de difusión de $31,3 \mu\text{A}$. Calcular, en porcentaje, el cambio en la concentración de la disolución si la intensidad en la región de la corriente límite se mantiene durante (a) 5 min; (b) 10 min; (c) 30 min.
- 25-9. Calcular la masa, en miligramos, de cadmio en cada mililitro de muestra, basándose en los siguientes datos (corriente residual corregida):

Disolución	Volúmenes utilizados, mL				
	Muestra	0,400 M KCl	$2,00 \times 10^{-3}$ M Cd^{2+}	H_2O	Intensidad, μA
(a)	15,0	20,0	0,00	15,0	79,7
	15,0	20,0	5,00	10,0	95,9
(b)	10,0	20,0	0,00	20,0	49,9
	10,0	20,0	10,0	10,0	82,3
(c)	20,0	20,0	0,00	10,0	41,4
	20,0	20,0	5,00	5,00	57,6
(d)	15,0	20,0	0,00	15,0	67,9
	15,0	20,0	10,0	5,00	100,3

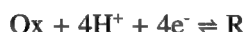
- 25-10. Los siguientes resultados polarográficos se obtuvieron para la reducción de Pb^{2+} obteniéndose su amalgama a partir de disoluciones $2,00 \times 10^{-3}$ M en Pb^{2+} , 0,100 M en KNO_3 , que contenían también las siguientes concentraciones del anión A^- . A partir de los potenciales de semionda, obtener la fórmula del complejo al igual que su constante de formación.

Concentraciones	
A^- , M	$E_{1/2}$ vs. ECS, V
0,0000	-0,405
0,0200	-0,473
0,0600	-0,507
0,1007	-0,516
0,300	-0,547
0,500	-0,558

- 25-11.** En la figura se muestra el polarograma obtenido para una disolución $1,0 \times 10^{-4}$ M en KBr y 0,1 M en KNO_3 . Dar una explicación de la onda que aparece a +0,12 V y del rápido cambio en la corriente que comienza a aproximadamente +0,48 V. La onda que aparece a +0,12 V, ¿podría tener aplicaciones analíticas? Explicarlo.

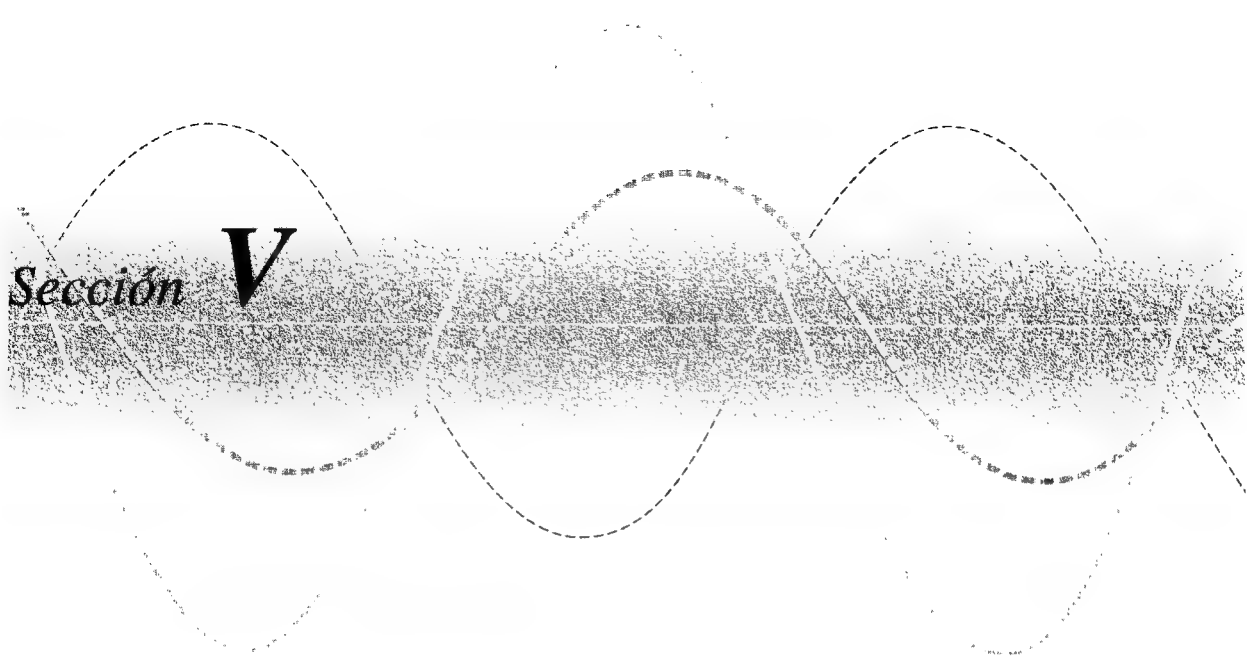


- 25-12.** La siguiente reacción es reversible y tiene un potencial de semionda de $-0,349$ V cuando se lleva a cabo en un electrodo de gotas de mercurio a partir de una disolución tamponada a pH 2,5.



Predecir el potencial de semionda a pH: (a) 1,0; (b) 3,5; (c) 7,0.

- 25-13.** ¿Por qué los métodos de redisolución son más sensibles que otros procedimientos voltamperométricos?
- 25-14.** ¿Cuáles son las ventajas de utilizar ultramicroelectrodos en voltamperometría?

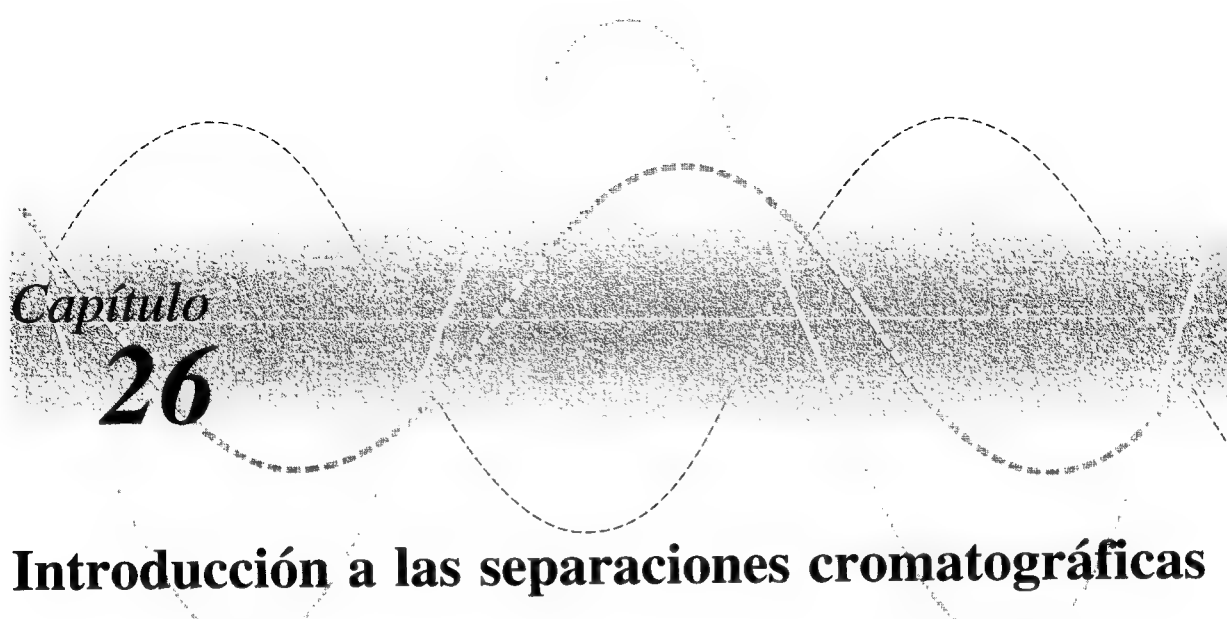


Sección V

Métodos de separación

26. Introducción a las separaciones cromatográficas
27. Cromatografía de gases
28. Cromatografía de líquidos de alta eficacia
29. Cromatografía y extracción con fluidos supercríticos
30. Electroforesis y electrocromatografía

Los métodos que se describen en esta sección se utilizan para separar los distintos componentes de las muestras analíticas y son previos a la determinación de éstas por medio de métodos instrumentales. El Capítulo 26 de ésta sección comienza con una introducción a la terminología y a la teoría de las separaciones haciendo hincapié en la optimización de las variables experimentales para un análisis cualitativo y cuantitativo eficaz. Seguidamente, en el Capítulo 27, se trata y se discute de forma minuciosa la teoría y la práctica de la cromatografía de gases. En los últimos años, el empleo de la cromatografía de líquidos de alta eficacia en distintos campos de la ciencia ha experimentado un enorme crecimiento; los detalles sobre esta técnica indispensable en el ámbito analítico se discuten en el Capítulo 28. El Capítulo 29 describe una técnica ampliamente utilizada, la cromatografía de fluidos supercríticos y muchas de sus aplicaciones. Esta sección concluye con la discusión de una técnica en auge, la electroforesis capilar y algunas de sus muchas aplicaciones.



Capítulo 26

Introducción a las separaciones cromatográficas

En general, los métodos para el análisis químico son, en el mejor de los casos, selectivos; pocos, si es que los hay, son verdaderamente específicos. En consecuencia, la separación del analito de las posibles interferencias es a menudo una etapa de vital importancia en los procedimientos analíticos. Hasta mediados del siglo XX, las separaciones analíticas se llevaban a cabo en su mayor parte por métodos clásicos como precipitación, destilación y extracción. Ahora, sin embargo, las separaciones analíticas se realizan, en la mayoría de los casos, por cromatografía y electroforesis, especialmente en el caso de mezclas complejas y multicomponentes. Este capítulo y los siguientes del 27 al 29 se dedican a los distintos tipos de cromatografía que se utilizan en la actualidad. El Capítulo 30 describe las separaciones por electroforesis.

La **cromatografía** es un poderoso método de separación que tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia. La cromatografía en columna fue inventada y denominada así, a principios del siglo XX por el botánico ruso Mikhail Tswett. Él empleó la técnica para separar varios pigmentos vegetales, tales como clorofilas y xantofilas, haciendo pasar disoluciones de estos compuestos a través

de una columna de vidrio rellena con carbonato de calcio finamente dividido. Las especies separadas aparecían como bandas coloreadas en la columna, lo que justifica el nombre que eligió para el método (del griego **chroma** que significa «color», y **graphein** que significa «escribir»).

Las aplicaciones de la cromatografía han aumentado en gran manera en los últimos cincuenta años, debido, no sólo al desarrollo de nuevos y diversos tipos de técnicas cromatográficas, sino también a las necesidades crecientes, por parte de los científicos, de mejores métodos para la caracterización de mezclas complejas. El tremendo impacto de esos métodos en la ciencia se confirmó al otorgarse el Premio Nobel de 1952 a A. J. P. Martin y R. L. M. Synge por sus descubrimientos en este campo. Más impresionante es, quizás, la lista de doce Premios Nobel concedidos entre 1937 y 1972, los cuales se basaron en trabajos en los que la cromatografía tenía un papel vital¹; hoy por hoy, indudablemente, esta lista ha aumentado.

¹ Véase L. S. Ettre, en *High-Performance Liquid Chromatography*, C. Horvath, Ed., Vol. 1, pag. 4, New York: Academic Press, 1980.

26A. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA CROMATOGRAFÍA

La cromatografía agrupa un conjunto importante y diverso de métodos, que permite a los científicos separar componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas, lo que en muchas ocasiones resulta imposible por otros medios². En todas las separaciones cromatográficas, la muestra se desplaza con una *fase móvil*, que puede ser un gas, un líquido o un fluido supercrítico. Esta fase móvil se hace pasar a través de una *fase estacionaria* con la que es inmisible, y que se fija a una columna o a una superficie sólida. Las dos fases se eligen de tal forma, que los componentes de la muestra se distribuyen de modo distinto entre la fase móvil y la fase estacionaria. Aquellos componentes que son fuertemente *retenidos* por la fase estacionaria se mueven lentamente con el flujo de la fase móvil; por el contrario, los componentes que se unen débilmente a la fase estacionaria, se mueven con rapidez. Como consecuencia de la distinta movilidad, los componentes de la muestra se separan en *bandas* o *zonas* discretas que pueden analizarse cualitativa y/o cuantitativamente

26A-1. Clasificación de los métodos cromatográficos

Los métodos cromatográficos se pueden clasificar de dos modos distintos. El primero de ellos se basa en la forma en que las fases estacionaria y móvil se ponen en contacto. En la *cromatografía en columna*, un tubo estrecho contiene la fase estacionaria a través de la cual hace pasar la fase móvil por presión. En la *cromatografía en plano*, la fase estacionaria se fija sobre una placa plana o a los intersti-

cios de un papel; en este caso la fase móvil se desplaza a través de la fase estacionaria por capilaridad o por gravedad. En éste y en los tres siguientes capítulos la discusión se centra en la cromatografía en columna. El Apartado 28H se dedica a los métodos de cromatografía en plano. Sin embargo, es importante señalar aquí que los equilibrios en los que se basan los dos tipos de cromatografía son idénticos, y que la teoría desarrollada para la cromatografía en columna se adapta también fácilmente a la cromatografía en plano.

Una clasificación más fundamental de los métodos cromatográficos se basa en el tipo de fase móvil y estacionaria, y en la clase de equilibrios implicados en la transferencia de los solutos entre las fases. La Tabla 26-1 da la relación de las tres clases generales de cromatografía: *cromatografía de líquidos*, *cromatografía de gases* y *cromatografía de fluidos supercríticos*. Como su nombre indica, las fases móviles en las tres técnicas son, respectivamente, líquidos, gases y fluidos supercríticos. Como se muestra en la columna 2 de la tabla, las dos primeras clases generales incluyen varios métodos cromatográficos.

Es digno de mencionarse que solamente la cromatografía de líquidos es la que puede llevarse a cabo en columnas o sobre superficies planas; por otra parte, tanto la cromatografía de gases como la de fluidos supercríticos están restringidas a los procedimientos en columna, de tal manera que las paredes de la columna contienen la fase móvil.

26A-2. Cromatografía de elución en columna

La Figura 26-1 muestra esquemáticamente cómo dos sustancias A y B se separan en una columna por *cromatografía de elución* con una fase móvil líquida. La elución implica el transporte de una especie a través de una columna por la adición continuada de nueva fase móvil. Como se indica en la figura, una única porción de la muestra se introduce en la parte superior de la columna (tiempo t_0 en la Fig. 26-1) después de lo cual los componentes de la muestra se distribuyen entre las dos fases. La introducción de fase móvil adicional (el *eluyente*) hace que la fase móvil que contiene una parte de la muestra avance por la columna, donde tiene lugar un posterior reparto entre la fase móvil y las porciones frescas de fase estacionaria a las que accede (tiempo t_1). Al mismo tiempo, tiene lugar una dis-

² Referencias generales sobre cromatografía incluyen: *Chromatography: Fundamentals and Applications of Chromatography and Electrophoretic Methods, Part A: Fundamentals, Part B: Applications*, E. Heftmann, Ed. New York: Elsevier, 1983; P. Sewell y B. Clarke, *Chromatographic Separations*. New York: Wiley, 1988; *Chromatographic Theory and Basic Principles*, J. A. Jonsson, Ed. New York: Marcel Dekker, 1987; R. M. Smith, *Gas and Liquid Chromatography in Analytical Chemistry*. New York: Wiley, 1988; K. Robards, P. R. Haddad y P. E. Jackson, *Principles and Practice of Modern Chromatographic Methods*, New York: Academic Press, 1994, R. P. W. Scott, *Techniques and Practice of Chromatography*, New York: Marcel Dekker, 1995; J. C. Giddings, *Unified Separation Science*. New York: Wiley, 1991.

TABLA 26-1. Clasificación de los métodos cromatográficos en columna

Clasificación general	Método específico	Fase estacionaria	Tipo de equilibrio
Cromatografía de líquidos (LC) (fase móvil: líquida)	Líquido-líquido, o reparto	Líquido adsorbido sobre un sólido	Distribución entre líquidos inmiscibles
	Líquido-fase unida químicamente	Especies orgánicas enlazadas a una superficie sólida	Distribución entre el líquido y la superficie enlazada
	Líquido-sólido, o adsorción	Sólido	Adsorción
	Intercambio iónico	Resina de intercambio iónico	Intercambio iónico
	Exclusión por tamaño	Líquido en los intersticios de un sólido polimérico	Distribución/exclusión
Cromatografía de gases (GC) (fase móvil: gas)	Gas-líquido	Líquido adsorbido sobre un sólido	Distribución entre un gas y un líquido
	Gas-fase unida químicamente	Especies orgánicas enlazadas a una superficie sólida	Distribución entre el líquido y la superficie enlazada
	Gas-sólido	Sólido	Adsorción
Cromatografía de fluidos supercríticos (SFC) (fase móvil: fluido supercrítico)		Especies orgánicas enlazadas a una superficie sólida	Distribución entre el fluido supercrítico y la superficie enlazada

tribución entre el disolvente nuevo y la fase estacionaria en el lugar en el que inicialmente se ubicaba la muestra.

Las sucesivas adiciones de la fase móvil hacen avanzar las moléculas de soluto por la columna en una serie de continuas transferencias entre las fases estacionaria y móvil. Sin embargo, debido a que el movimiento de los solutos sólo puede ocurrir en la fase móvil, la *velocidad* media a la que una zona de soluto migra en la columna *depende de la fracción de tiempo que reside en esta fase*. Esta fracción de tiempo es pequeña para las sustancias que son retenidas fuertemente por la fase estacionaria (por ejemplo, el compuesto B en la Fig. 26-1) y es grande cuando es más probable la retención en la fase móvil (componente A). En el mejor de los casos, las diferencias de velocidad que resultan hacen que se separen los componentes de la mezcla en bandas, o zonas, que se localizan a lo largo de la columna (véase el tiempo t_2 en la Fig. 26-1). El aislamiento de las especies separadas se lleva a cabo haciendo pasar suficiente cantidad de fase móvil a través de la columna hasta que las bandas indivi-

duales salen de ella, pudiendo así detectarse o recogerse (tiempos t_3 y t_4 en la Fig. 26-1).

Dilución del analito

La Figura 26-1 ilustra una importante característica común al proceso de separación, a saber, dilución del analito, y que acompaña casi siempre a las separaciones. Así, el tamaño de la banda original que contiene los analitos en la figura es notablemente más pequeño que cualquiera de las dos zonas que llegan al detector, lo que significa que se produce una importante dilución de los analitos mientras ellos están siendo separados. Por tanto, los detectores empleados para los analitos separados deben ser, con frecuencia, más sensibles que los que serían necesarios si el proceso de separación no fuera imprescindible.

Cromatogramas

Si un detector que responde a la concentración del soluto se coloca al final de la columna, y se registra su señal en función del tiempo (o del volumen de fase

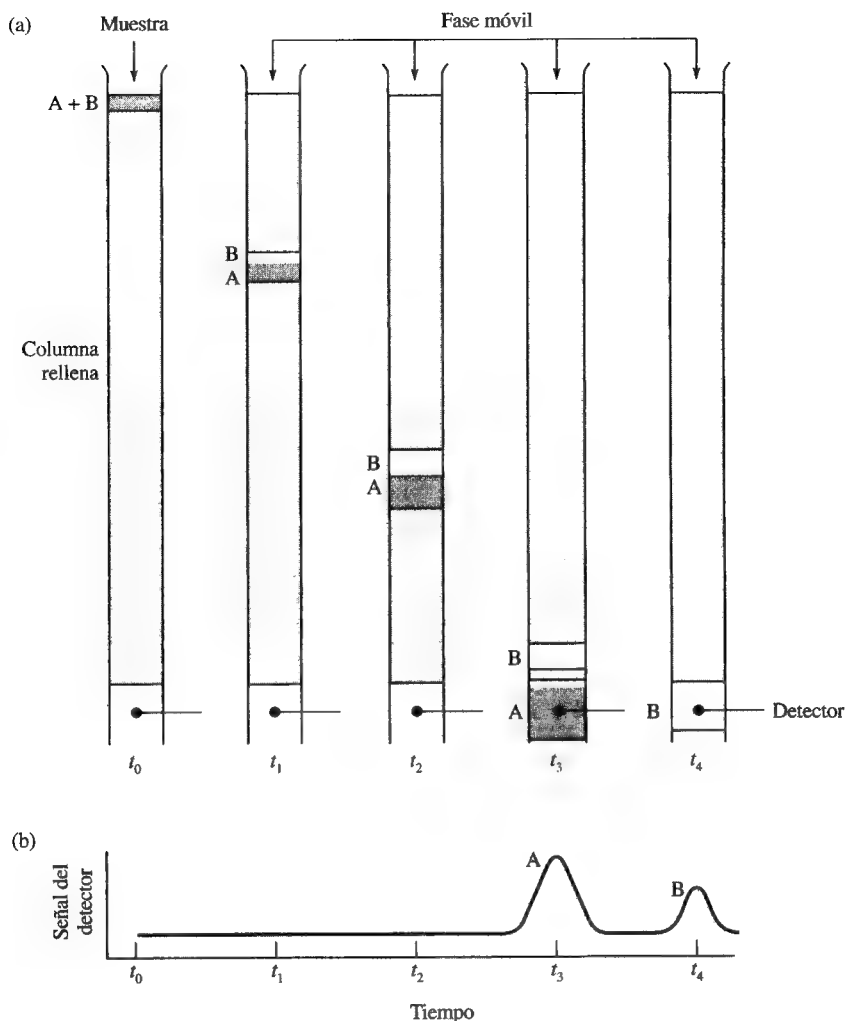


Figura 26-1. (a) Diagrama que muestra la separación de una mezcla de A y B por cromatografía de elución en columna. (b) Señal de salida del detector en las distintas fases de la elución mostradas en (a).

móvil añadido), se obtienen una serie de picos como se muestra en la parte inferior de la Figura 26-1. Este gráfico denominado *cromatograma*, es útil tanto para el análisis cualitativo como cuantitativo. La posición de los picos en el eje del tiempo puede servir para identificar los componentes de la muestra; las áreas bajo los picos proporcionan una medida cuantitativa de la cantidad de cada componente.

Efectos de las velocidades de migración y del ensanchamiento de banda sobre la resolución

La Figura 26-2 muestra los perfiles de concentración de los solutos A y B en dos etapas, anterior (t_1)

y posterior (t_2), de la elución en la columna cromatográfica representada en la Figura 26-1³. La especie B es retenida más fuertemente, y por ello se retrasa durante la migración. Es evidente que el movimiento de avance por la columna aumenta la distancia entre las dos bandas. Sin embargo, al mis-

³ Obsérvese que la posición relativa de las bandas de A y de B en el perfil de concentración que se muestra en la Figura 26-2 resulta ser la contraria que la de los picos en el cromatograma que se muestra en la parte inferior de la Figura 26-1. La diferencia, naturalmente, es que en la primera las abscisas son la distancia a lo largo de la columna, mientras que en la otra corresponden al tiempo. De este modo, en el cromatograma de la Figura 26-1, el frente de un pico queda a la izquierda y la cola a la derecha; para el perfil de concentración o banda ocurre lo contrario.

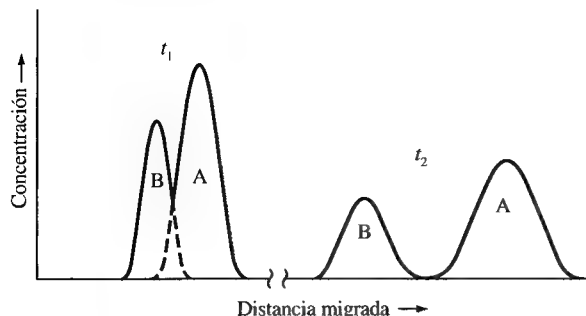


Figura 26-2. Perfiles de concentración de las bandas de los analitos A y B a dos tiempos distintos en su migración a lo largo de la columna de la Figura 26-1. Los tiempos t_1 y t_2 se indican en la Figura 26-1.

mo tiempo tiene lugar un ensanchamiento de ambas zonas, lo que disminuye la eficacia de la columna como sistema de separación. Aunque el ensanchamiento de banda es inevitable, por lo común se pueden encontrar unas condiciones en las que ocurra más lentamente que la separación de bandas. De este modo, tal como se muestra en la Figura 26-1, con frecuencia es posible una resolución clara de las especies siempre que la columna sea lo bastante larga.

La Figura 26-3 muestra dos métodos para mejorar la separación de una hipotética mezcla de dos

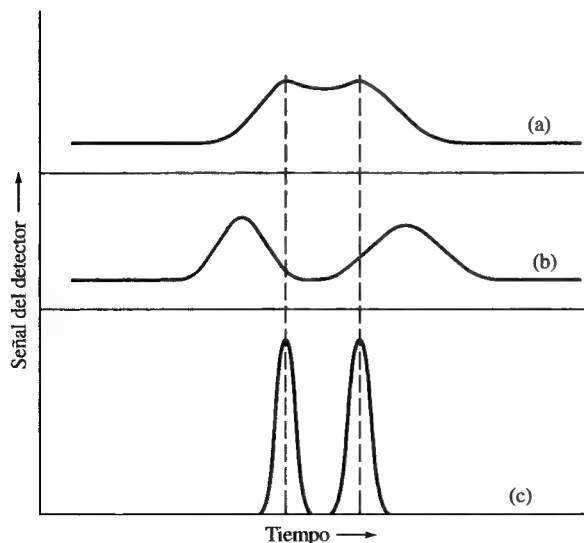


Figura 26-3. Cromatogramas de dos componentes ilustrando dos métodos para mejorar la separación: (a) cromatograma original con los picos solapados; mejora producida por (b) un aumento en la separación de las bandas y (c) una disminución de la anchura (dispersión) de las bandas.

componentes. En la Figura 26-3b, las condiciones se han modificado de tal manera que el primer componente avanza a través de la columna a una mayor velocidad que el segundo componente. En 26-3c se han disminuido las velocidades y el ensanchamiento de zona para las dos especies. En los dos casos las medidas adoptadas claramente conducen a una separación mejor. En el siguiente apartado se describen las variables que influyen en la velocidad de migración relativa de las bandas de los solutos a través de la fase estacionaria. En el Apartado 26C se consideran los factores que influyen en la velocidad de ensanchamiento de banda.

26B. VELOCIDADES DE MIGRACIÓN DE LOS SOLUTOS⁴

La eficacia de una columna cromatográfica para separar dos solutos depende, en parte, de las velocidades relativas con las que eluyen las dos especies. Esas velocidades están determinadas por la magnitud de las constantes de los equilibrios en función de las cuales las especies se distribuyen entre las fases estacionaria y móvil.

26B-1. Constantes de distribución

En general, los equilibrios de distribución implicados en cromatografía se describen por ecuaciones sencillas que suponen la transferencia de un analito entre las fases estacionaria y móvil. Así, para el soluto A, se puede escribir:

$$A_{\text{móvil}} \rightleftharpoons A_{\text{estacionaria}}$$

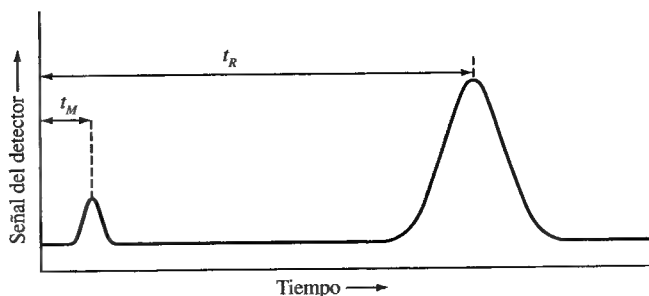
La constante de equilibrio K para este proceso se denomina *constante de distribución*, la *razón de distribución* o *coeficiente de distribución*⁵, y se define como:

$$K = \frac{c_s}{c_M} \quad (26-1)$$

⁴ Habitualmente, en la práctica, la palabra «migración» se utiliza como una descripción genérica de los movimientos de las moléculas en cromatografía, y no debería confundirse con *migración* como un movimiento molecular específico donde los iones se desplazan bajo la influencia de un campo eléctrico. Véase el Apartado 22A-4.

⁵ Véase L. S. Ettre, *Pure Appl. Chem.*, **1993**, 65, 819 para las recomendaciones recientes de la Comisión de Nomenclatura Analítica para cromatografía de la IUPAC. El Comité reco-

Figura 26-4. Cromatograma característico de una mezcla de dos componentes. El pico pequeño de la izquierda representa una especie que no se retiene en la columna, y de esta forma alcanza el detector casi inmediatamente después del inicio de la elución. Por tanto, su tiempo de retención t_M es aproximadamente igual al tiempo que emplea una molécula de la fase móvil para pasar a través de la columna.



donde c_s es la concentración molar del soluto en la fase estacionaria y c_M es la concentración molar en la fase móvil. Idealmente, K es constante en un amplio intervalo de concentraciones de soluto; de este modo, c_s es directamente proporcional a c_M . La cromatografía en la que es aplicable la Ecuación 26-1 se denomina *cromatografía lineal* y, en tal caso, los picos son gaussianas simétricas características y los tiempos de retención son independientes de la cantidad del analito inyectado. Las discusiones teóricas se limitarán exclusivamente a la cromatografía lineal.

26B-2. Tiempo de retención

La Figura 26-4 muestra un cromatograma característico para una muestra que contiene un solo analito. El tiempo que transcurre después de la inyección de la muestra hasta que el pico de concentración del analito alcanza el detector se denomina *tiempo de retención* y se le da el símbolo t_R . El pico pequeño de la izquierda corresponde a una especie que *no* es retenida por la columna. A menudo la muestra o la fase móvil contiene una especie que no se retiene. Cuando no es así, este tipo de especies pueden añadirse para facilitar la identificación de los picos. El tiempo t_M , necesario para que la especie no retenida alcance el detector, en algunas ocasiones se denomina *tiempo muerto*. La velocidad de migración de la especie no retenida coincide con la velocidad promedio del movimiento de las moléculas de la fase móvil.

mienda el empleo del término *coeficiente de distribución* en lugar del término más antiguo, ya en desuso, de *coeficiente de reparto* o *relación de reparto*. En este capítulo se utiliza el término recomendado, pero se mantiene el símbolo K . Consúltese el Apartado 3.9.01, página 846, de la referencia antes mencionada para la definición de K , y para la base lógica de su utilización. Se debe saber que ambos términos se hallan en la literatura cromatográfica.

La velocidad lineal promedio de migración del soluto $\bar{v}$ es:

$$\bar{v} = \frac{L}{t_R} \quad (26-2)$$

donde L es la longitud de la columna que está rellena. De manera semejante, la velocidad lineal promedio u del movimiento de las moléculas de la fase móvil es

$$u = \frac{L}{t_M} \quad (26-3)$$

donde t_M , el *tiempo muerto**, es el tiempo necesario para que, por término medio, una molécula de la fase móvil pase a través de la columna.

26B-3. Relación entre el tiempo de retención y el coeficiente de distribución

Para relacionar el tiempo de retención de un soluto con su coeficiente de distribución, su velocidad de migración se expresa como una fracción de la velocidad de la fase móvil:

$$\bar{v} = u \times \text{fracción de tiempo que el analito reside en la fase móvil}$$

Sin embargo, esta fracción coincide con el número promedio de moles de un soluto en la fase móvil, en cualquier instante, dividido por el número de moles de soluto en la columna:

$$\bar{v} = u \times \frac{\text{moles del soluto en la fase móvil}}{\text{moles totales del soluto}}$$

* *N. del T.* También denominado por algunos autores *tiempo básico*.

El número total de moles de un soluto en la fase móvil es igual a la concentración molar c_M del soluto en esta fase multiplicado por el volumen de la fase V_M . Análogamente, el número de moles del soluto en la fase estacionaria viene dado por el producto de la concentración c_S del soluto en la fase estacionaria y su volumen V_S . Por tanto,

$$\bar{v} = u \times \frac{c_M V_M}{c_M V_M + c_S V_S} = u \times \frac{1}{1 + c_S V_S / c_M V_M}$$

Sustituyendo la Ecuación 26-1 en esta ecuación se obtiene una expresión para la velocidad de migración del soluto en función de su coeficiente de distribución y de los volúmenes de las fases estacionaria y móvil:

$$\bar{v} = u \times \frac{1}{1 + K V_S / V_M} \quad (26-4)$$

Los dos volúmenes pueden estimarse a partir del procedimiento de preparación de la columna.

26B-4. La velocidad de migración del soluto: el factor de retención

El *factor de retención* o *factor de capacidad* es un parámetro importante que con frecuencia se utiliza para describir las velocidades de migración de los solutos en las columnas⁶. Para una especie A, el factor de retención k'_A se define como

$$k'_A = \frac{K_A V_S}{V_M} \quad (26-5)$$

donde K_A es el coeficiente de distribución de la especie A. Sustituyendo la Ecuación 26-5 en la 26-4 se obtiene

$$\bar{v} = u \times \frac{1}{1 + k'_A} \quad (26-6)$$

Para mostrar cómo k'_A se puede obtener a partir de un cromatograma, se sustituyen las Ecuaciones 26-2 y 26-3 en la Ecuación 26-6:

$$\frac{L}{t_R} = \frac{L}{t_M} \times \frac{1}{1 + k'_A} \quad (26-7)$$

Al reordenar esta ecuación se tiene

$$k'_A = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad (26-8)$$

Como se muestra en la Figura 26-4, t_R y t_M se pueden obtener fácilmente a partir de un cromatograma. Cuando el factor de retención para una especie es mucho menor que la unidad, la elución tiene lugar tan rápidamente que es difícil determinar con exactitud los tiempos de retención. Cuando el factor de retención es del orden de 20 a 30 o tal vez mayor, los tiempos de elución son excesivamente largos. Idealmente, las separaciones se realizan en unas condiciones en las que los factores de retención para las especies de una mezcla oscilan entre 2 y 10.

26B-5. Velocidades de migración relativas: el factor de selectividad*

El *factor de selectividad* α de una columna para dos especies A y B se define como:

$$\alpha = \frac{K_B}{K_A} \quad (26-9)$$

donde K_B es el coeficiente de distribución para la especie más fuertemente retenida B, y K_A es el coeficiente de distribución para la menos retenida, o que eluye con más rapidez, la especie A. Según esta definición α *siempre es mayor que la unidad*.

Sustituyendo la Ecuación 26-5 y la análoga para la especie B en la Ecuación 26-9 se obtiene, después de reordenar, una relación entre el factor de selectividad para dos analitos y sus factores de retención:

$$\alpha = \frac{k'_B}{k'_A} \quad (26-10)$$

donde k'_B y k'_A son los factores de retención de B y de A, respectivamente. La sustitución de la Ecuación

⁶ La Comisión de la IUPAC para nomenclatura analítica, hoy en día recomienda denominar *factor de retención* a k' en lugar del término más antiguo *factor de capacidad*, que se simboliza por k . Nosotros utilizamos el término recomendado; sin embargo, mantenemos el símbolo k' debido a que todavía se emplea ampliamente en la literatura. Para más detalles con respecto a la base para este cambio, así como para otros cambios en la nomenclatura, véase L. S. Ettre, *Pure Appl. Chem.*, **1993**, 65, 843 (Apartado, 3.7.12).

* N. del T. También denominado *factor de separación*.

ción 26-8 para las dos especies en la Ecuación 26-10 da una ecuación que permite la determinación de α a partir de un cromatograma experimental:

$$\alpha = \frac{(t_R)_B - t_M}{(t_R)_A - t_M} \quad (26-11)$$

En el Apartado 26D-1 se muestra cómo utilizar el factor de selectividad y los factores de retención para calcular el poder de resolución de una columna.

26C. ENSANCHAMIENTO DE BANDA Y EFICACIA DE LA COLUMNA

La *teoría cinética*, o de la velocidad, de la *cromatografía* explica acertadamente en términos cuantitativos las formas de los picos y los efectos de distintas variables sobre la anchura de estos picos⁷. Una discusión detallada de esta teoría, la cual se basa en un mecanismo de movimiento aleatorio, está fuera del alcance de este texto. Sin embargo, se puede dar una visión cualitativa de las bandas cromatográficas y del porqué se ensanchan al moverse a través de la columna. Esta discusión lleva a considerar las variables que mejoran la eficacia de la columna por reducción del ensanchamiento.

26C-1. Las formas de los picos cromatográficos

El examen de los picos en un cromatograma (Figuras 26-1 y 26-4) o de las bandas en las columnas (Fig. 26-2) revela una semejanza con las curvas de error normal o Gaussianas (Fig. a1-3, Apéndice 1), las cuales se obtienen cuando se representan los replicados de una medida en función de la frecuencia con que aparecen⁸. Como se explica en el Aparta-

do a1B-1, las curvas de error normal pueden entenderse suponiendo que la incertidumbre asociada con cualquier medida única es la suma de un gran número de incertidumbres pequeñas, aleatorias e individualmente indetectables, cada una de las cuales tiene igual probabilidad de ser positiva o negativa. Lo que ocurre con frecuencia es que esas incertidumbres se compensan unas con otras, y de este modo conducen al valor medio. Con menor probabilidad sucede que la suma puede dar resultados que sean mayores o menores que la media. Como consecuencia se obtiene una distribución simétrica de los datos replicados alrededor de la media. De una manera similar, la forma gaussiana de una banda cromatográfica ideal se puede atribuir a la combinación aditiva de los movimientos aleatorios de las numerosas moléculas de soluto en la banda cromatográfica.

Resulta instructivo considerar primero el comportamiento de una molécula individual del soluto, la cual, durante la migración, experimenta miles de transferencias entre las fases estacionaria y móvil. El tiempo que pasa en cada fase después de una transferencia es muy irregular, y depende de que gane accidentalmente la suficiente energía térmica del medio para que se produzca la transferencia inversa. Por ello, en algunos casos, el tiempo de residencia en una fase dada puede ser transitorio; en otros, puede ser relativamente largo. Recuérdese que la partícula se eluye *solamente cuando reside en la fase móvil*; como resultado, su migración a través de la columna es también muy irregular. Debido a la variabilidad en el tiempo de residencia, la velocidad promedio con la que las partículas individuales se mueven en relación con la fase móvil varía considerablemente. Ciertas partículas se desplazan con rapidez en virtud de su inclusión accidental en la fase móvil durante la mayor parte del tiempo. Otras, por el contrario, pueden retrasarse debido a que casualmente se han incorporado a la fase estacionaria durante un tiempo mayor que el promedio. La consecuencia de esos procesos individuales aleatorios, es una dispersión simétrica de las velocidades alrededor del valor medio, el cual representa el comportamiento de la molécula promedio.

⁷ Para una presentación detallada de la teoría de velocidades, véase J. C. Giddings, *Dynamics of Chromatography*, Parte I, New York: Marcel Dekker, 1965; J. C. Giddings, *Unified Separation Science*, New York: Wiley, 1990; R. P. W. Scott, *Contemporary Liquid Chromatography* (Vol. XI de *Techniques of Chemistry*, A. Weissberger, Ed.), Capítulo 2, New York: Wiley, 1976. Para una presentación resumida, véase J. C. Giddings, *J. Chem. Educ.*, **1958**, 35, 588; **1967**, 44, 704.

⁸ Algunos picos son no ideales y presentan deformación hacia la *cola* o hacia el *frente*. En el primer caso la cola del pico, que aparece a la derecha en el cromatograma, se alarga mientras que el frente se acorta bruscamente. Cuando la deformación es hacia el frente ocurre lo contrario, y se originan picos con asi-

metría frontal. Una causa frecuente de estas asimetrías es un coeficiente de distribución no lineal. La asimetría frontal también se da cuando se ha introducido demasiada muestra en la columna. Las distorsiones de este tipo no son deseables debido a que conducen a peores separaciones y a tiempos de elución menos reproducibles. En la discusión que sigue se asume que estas distorsiones son mínimas o están ausentes.

La anchura de una banda aumenta a medida que se mueve a través de la columna, debido a que se dispone de más tiempo para que la dispersión tenga lugar. Por ello, la anchura de la zona está relacionada directamente con el tiempo de permanencia en la columna, e inversamente con la velocidad a la que fluye la fase móvil.

26C-2. Métodos para describir la eficacia de la columna

Dos términos afines se utilizan ampliamente como medidas cuantitativas de la eficacia de una columna cromatográfica: (1) la *altura de plato* H y (2) el *número de platos* N . Los dos están relacionados por la ecuación:

$$N = L/H \quad (26-12)$$

donde L es la longitud (normalmente en centímetros) del relleno de la columna. La eficacia de la columna cromatográfica aumenta cuanto mayor es el número de platos, y cuanto menor es la altura de plato. Se han encontrado enormes diferencias en las eficacias debido a diferencias en el tipo de columna, y en el tipo de fases móvil y estacionaria utilizadas. Las eficacias en términos de número de platos pueden variar desde pocos cientos a varios cientos de miles; no son infrecuentes las alturas de plato que oscilan de unas pocas décimas a una milésima de centímetro o menos.

El origen de los términos «altura de plato» y «número de platos teóricos» proviene de un estudio teórico pionero de Martin y Synge en el que trataron una columna cromatográfica como si fuera similar a una columna de destilación que estuviera constituida por numerosas capas estrechas, discretas pero contiguas, denominadas *platos teóricos*⁹. Se suponía que en cada plato se establecía el equilibrio de la especie entre las fases móvil y estacionaria. El movimiento del analito a través de la columna se trataba entonces como una transferencia por etapas de la fase móvil equilibrada de un plato al siguiente.

La *teoría del plato* explica con éxito la forma gaussiana de los picos cromatográficos y su velocidad de desplazamiento a través de la columna. Sin embargo, al final se abandonó en favor de la *teoría*

de la *velocidad*, debido a que la primera fallaba al intentar justificar el ensanchamiento de pico de una manera mecanicista. No obstante, los términos originales para la eficacia se han incorporado a la teoría de velocidades. Esta nomenclatura es tal vez algo desafortunada pues tiende a perpetuar el mito de que una columna contiene platos donde se dan las condiciones de equilibrio. De hecho, el estado de equilibrio nunca se puede alcanzar con la fase móvil moviéndose constantemente.

Definición de altura de plato

Como se muestra en el Apartado a1B-1 del Apéndice 1, la anchura de una curva gaussiana está directamente relacionada con la varianza σ^2 o la desviación estándar σ de una medida. En general se asume que las bandas cromatográficas tienen una forma gaussiana, por ello resulta conveniente definir la eficacia de una columna en los términos de varianza por unidad de longitud de la columna. De esta forma, la altura de plato H viene dada por:

$$H = \frac{\sigma^2}{L} \quad (26-13)$$

Esta definición de la altura de plato se ilustra en la Figura 26-5, donde se muestra una columna con un relleno de L cm de longitud. Encima de este esquema se muestra una gráfica que representa la distribución de las moléculas a lo largo de la columna en el momento en que el pico del analito alcanza el extremo final del relleno (es decir, en el tiempo de retención t_R). La curva es gaussiana, y la ubicación

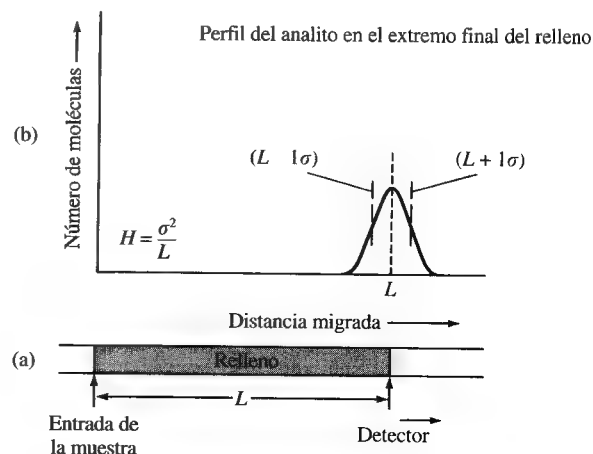


Figura 26-5. Definición de la altura de plato $H = \sigma^2/L$.

⁹ A. J. P. Martin y R. L. M. Synge, *Biochem. J.*, **1941**, *35*, 1358.

de $L - 1\sigma$ y $L + 1\sigma$ se indica mediante líneas verticales discontinuas. Obsérvese que las unidades de L son centímetros y las de σ^2 son centímetros cuadrados; de este modo H representa una distancia lineal, en centímetros (Ecuación 26-13). De hecho, puede pensarse en la altura de plato como la longitud de columna (en el extremo de la columna) que contiene la fracción de analito comprendida entre $L - 1\sigma$ y L . Debido a que el área bajo la curva normal de error limitada por $\pm\sigma$ es aproximadamente el 68 por 100 del área total, una altura de plato, tal como se ha definido, contiene un 34 por 100 del analito.

La evaluación experimental de H y N

La Figura 26-6 muestra un cromatograma característico con el tiempo en abscisas. La varianza del pico del analito, que se puede obtener por un procedimiento gráfico sencillo, tiene unidades de segundos al cuadrado y normalmente se designa como τ^2 para distinguirlo de σ^2 , que tiene unidades de centímetros al cuadrado. Las dos desviaciones estándar τ y σ se relacionan por

$$\tau = \frac{\sigma}{L/t_R} \quad (26-14)$$

donde L/t_R es la velocidad lineal promedio de la especie en centímetros por segundo.

La Figura 26-6 ilustra una manera sencilla de deducir aproximadamente τ y σ a partir de un cromatograma experimental. Se trazan las tangentes en los puntos de inflexión a los dos lados del pico cromatográfico, y se extienden para formar un triángulo con la línea base del cromatograma. Puede demostrarse que el área de este triángulo es aproximadamente el 96 por 100 del área total bajo el pico. En el Apartado 1B-1 se indica que casi un 96 por 100 del área bajo un pico gaussiano se en-

cuentra dentro del intervalo comprendido entre más y menos dos desviaciones estándar ($\pm 2\sigma$) alrededor de su máximo. Así, las intersecciones indicadas en la Figura 26-6 tienen lugar a una distancia del máximo de aproximadamente $\pm 2\tau$, y $W = 4\tau$, donde W corresponde a la base del triángulo. Al sustituir esta relación en la Ecuación 26-14 y reordenando se obtiene:

$$\sigma = \frac{LW}{4t_R} \quad (26-15)$$

La sustitución de esta ecuación para σ en la Ecuación 26-13 da:

$$H = \frac{LW^2}{16t_R^2} \quad (26-16)$$

Para obtener N , sustituir en la Ecuación 26-12 y reordenar para dar

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2 \quad (26-17)$$

De este modo, N se puede calcular a partir de dos medidas de tiempo, t_R y W ; para calcular H , se ha de conocer también la longitud del relleno de la columna L .

Otro método para evaluar N , que algunos autores creen más fiable, se basa en determinar $W_{1/2}$, la anchura del pico a la mitad de su altura máxima. El número de platos viene entonces dado por

$$N = 5,54 \left(\frac{t_R}{W_{1/2}} \right)^2 \quad (26-18)$$

El número de platos teóricos N y la altura de plato H se utilizan con frecuencia, tanto en la bibliografía como por los fabricantes de instrumen-

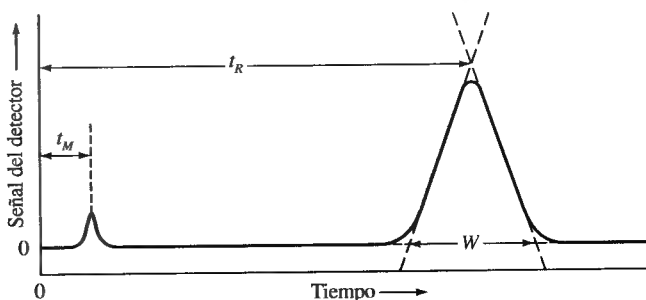


Figura 26-6. Determinación de la desviación estándar τ de un pico cromatográfico: $W = 4\tau$.

tos, para evaluar la eficacia de la columna. Para que esos números tengan sentido en la comparación de dos columnas, es esencial que se hayan determinado utilizando el mismo compuesto.

26C-3. Variables cinéticas que influyen en el ensanchamiento de banda

El ensanchamiento de banda se ha demostrado que se produce como consecuencia de la velocidad finita con la que ocurren los distintos procesos de transferencia de masa durante la migración de una especie a lo largo de la columna. Algunas de esas velocidades se controlan por el ajuste de variables experimentales, lo que permite una mejora de las separaciones. La Tabla 26-2 enumera las variables experimentales más importantes. En los párrafos siguientes se describen sus efectos sobre la eficacia de la columna, evaluados por la altura de plato H .

Influencia del caudal de la fase móvil

La magnitud de los efectos cinéticos sobre la eficacia de la columna depende claramente del tiempo de contacto entre la fase móvil y la fase estacionaria, el cual a su vez depende del caudal de la fase móvil. Por esta razón, los estudios de eficacia generalmente se han realizado determinando H (me-

dian las Ecuaciones 26-17 o 26-18 y 26-12) en función de la velocidad de la fase móvil u . Los datos obtenidos de estos estudios se representan en las dos gráficas que se muestran en la Figura 26-7, una para la cromatografía de líquidos, y la otra para la cromatografía de gases. En ambos casos H pasa por un valor mínimo (o un máximo en eficacia) a bajos caudales. Los mínimos para la cromatografía de líquidos generalmente se dan con caudales bastante menores que para la cromatografía de gases, y a menudo son tan bajos que en las condiciones de trabajo habituales no llegan a observarse. La teoría cinética, en su tratamiento del ensanchamiento de banda cromatográfico, que se describe en este apartado, predice exactamente el perfil de la gráfica de H frente a u ; esta gráfica se denomina frecuentemente *representación gráfica de la ecuación de van Deemter* por ser él quien desarrolló la teoría.

Tal como se indica en la Figura 26-7, las velocidades lineales de la fase móvil en cromatografía de líquidos son significativamente menores que las que se utilizan en cromatografía de gases. Esto significa que las separaciones por cromatografía de gases se completan en tiempos menores que las separaciones por cromatografía de líquidos. Además, tal como se puede observar en la figura, las alturas de plato para las columnas de cromatografía de lí-

TABLA 26-2. Variables que influyen en la eficacia de la columna

Variable	Símbolo	Unidades habituales
Velocidad lineal de la fase móvil	u	$\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$
Coefficiente de difusión en la fase móvil*	D_M	$\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
Coefficiente de difusión en la fase estacionaria*	D_S	$\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
Factor de retención (Ecuación 26-8)	k'	sin unidades
Diámetro de la partícula del relleno	d_p	cm
Espesor del recubrimiento líquido en la fase estacionaria	d_f	cm

* Aumenta con el incremento de la temperatura y la disminución de la viscosidad

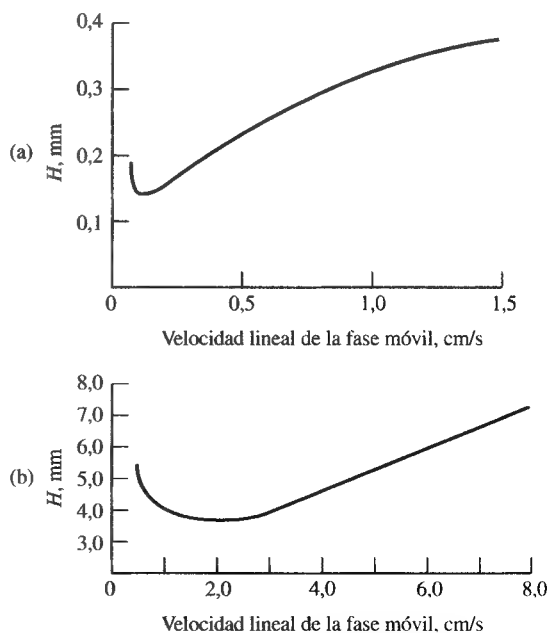


Figura 26-7. Efecto del caudal de la fase móvil sobre la altura de plato (a) en cromatografía de líquidos y (b) en cromatografía de gases.

quidos son por lo menos un orden de magnitud menores que las que se encuentran para las columnas de cromatografía de gases. Esta ventaja se contrarresta, sin embargo, porque en cromatografía de líquidos resulta poco práctico emplear columnas más largas de los 25 a 50 cm (debido a las elevadas caídas de presión que se producen), mientras que en cromatografía de gases las columnas pueden tener una longitud de 50 m o más. Como consecuencia de ello, el número total de platos, y por tanto la eficacia de la columna, son con frecuencia superiores con las columnas de cromatografía de gases. Así, si se compara la cromatografía de gases y la cromatografía de líquidos, la cromatografía de gases es capaz de realizar separaciones más rápidas y con mayor eficacia aunque ambas cualidades no se den necesariamente de forma simultánea.

Relación entre la altura de plato y las variables de la columna

En los últimos cuarenta años, se ha dedicado un enorme esfuerzo tanto experimental como teórico para el desarrollo de relaciones cuantitativas que describen los efectos de las variables de la Tabla 26-2 sobre las alturas de plato de diversos tipos de columnas. Puede que se hayan propuesto y aplicado, con más o menos acierto, una docena o más de expresiones matemáticas que relacionan las alturas de plato con las variables de la columna. Está claro que ninguna de estas ecuaciones resulta completamente adecuada para explicar las complejas interacciones físicas y los efectos que conducen al ensanchamiento de zona. Sin embargo, algunas, aunque imperfectas, han sido de gran utilidad para indicar la forma de mejorar la eficacia de la columna. Uno de ellas se presenta a continuación.

La aproximación matemática al comportamiento de las columnas cromatográficas empezó con los estudios, en los años cincuenta, de los ingenieros químicos holandeses y que condujeron a la *ecuación de van Deemter*, la cual puede escribirse de la siguiente forma:

$$H = A + B/u + C_u \\ = A + B/u + (C_s + C_m)u \quad (26-19)$$

donde H es la altura de plato, en centímetros, y u es la velocidad lineal de la fase móvil, en centímetros por segundo, y A , B y C son los coeficientes, que se relacionan respectivamente con los fenómenos de los caminos múltiples de flujo, la difusión longitu-

dinal y la transferencia de masa entre las fases. Como aparece en la expresión de la derecha, el coeficiente C puede desdoblarse en dos coeficientes, uno relacionado con la fase estacionaria (C_s) y el otro relacionado con la fase móvil (C_m).

Estudios teóricos más recientes han conducido al refinamiento de esta expresión, y también ha sido demostrado experimentalmente que la ecuación básica de van Deemter es bastante adecuada para comprender mejor la eficacia de la columna¹⁰. Obsérvese que la ecuación de van Deemter contiene términos independientes que están lineal e inversamente relacionados con la velocidad de la fase móvil.

A continuación se examinan con algún detalle las variables que influyen en cada uno de los cuatro términos de la Ecuación 26-19, A , B/u , $C_s u$, $C_m u$. Estos términos aparecen en la Tabla 26-3 y se describen en los párrafos siguientes.

Término del camino múltiple (A). El ensanchamiento de banda surge, en parte, debido a la multitud de caminos por los cuales las moléculas (o iones) pueden caminar a través de la columna rellena. Como se muestra en la Figura 26-8, la longitud de estos caminos puede diferir significativamente; así, el tiempo que permanece en la columna el mismo tipo de moléculas es también variable. Las moléculas de soluto alcanzan entonces el extremo de la columna en un intervalo de tiempo, lo cual conduce a un ensanchamiento de banda. Como se muestra en la tercera columna de la Tabla 26-3, este efecto se denomina a veces *difusión en remolino*, y es directamente proporcional al diámetro de las partículas que componen el relleno de la columna.

El ensanchamiento por camino múltiple puede ser compensado parcialmente por la difusión ordinaria, lo que tiene como consecuencia la transferencia de las moléculas de una corriente de flujo que sigue un determinado camino a otra corriente de flujo que sigue otro diferente. Si la velocidad del flujo es muy pequeña tiene lugar un gran número de transferencias y cada molécula en su desplazamiento descendente en la columna prueba numerosos caminos de flujo empleando en cada uno un tiempo breve. Por tanto, la velocidad a la que cada molécula desciende por la columna tiende a aproximarse a la media. Así, con velocidades pequeñas de la fase móvil, las moléculas no se dispersan

¹⁰ E. Katz, K. L. Ogan y R. P. W. Scott, *J. Chromatogr.*, **1983**, 270, 51.

TABLA 26-3. Procesos cinéticos que contribuyen al ensanchamiento del pico

Proceso	Término en la Ecuación 26-19	Relación con las propiedades del analito y de la columna*
Camino múltiple	A	$A = 2\lambda d_p$
Difusión longitudinal	B/u	$\frac{B}{u} = \frac{2\gamma D_M}{u}$
Transferencia de masa hacia y desde la fase estacionaria líquida	$C_S u$	$C_S u = \frac{f_S(k') d_f^2}{D_S} u$
Transferencia de masa en la fase móvil	$C_M u$	$C_M u = \frac{f_M(k') d_p^2}{D_M} u$

* u , D_S , D_M , d_p , d_f , k' , tal como se han definido en la Tabla 26-2.

$f(x)$ = función de x .

λ y γ : constantes que dependen de la calidad del relleno.

B : coeficiente de difusión longitudinal.

C_S y C_M : coeficientes de transferencia de masa en las fases estacionaria y móvil, respectivamente.

apreciablemente por el camino múltiple natural del relleno. Con velocidades moderadas o elevadas, no se dispone de tiempo suficiente para que se produzca el promediado por difusión, y por ello se observa ensanchamiento de banda debido a las diferentes longitudes de los caminos.

El término de la difusión longitudinal (B/u). La difusión longitudinal en la cromatografía en columna es una causa del ensanchamiento de banda por la que los solutos difunden desde la zona cen-

tral donde es mayor la concentración hacia las regiones más diluidas situadas por delante y detrás del centro de la banda, es decir, en el mismo sentido y en el opuesto al flujo de la fase móvil. Como indica la segunda ecuación en la Tabla 26-3, el término de la difusión longitudinal es directamente proporcional al coeficiente de difusión en la fase móvil, D_M , que es una constante que equivale a la velocidad de migración en un gradiente de concentración unidad. La constante γ se denomina factor de obstrucción, nombre que reconoce que la difusión longitudinal está dificultada por el relleno. En las columnas rellenas, esta constante normalmente tiene un valor alrededor de 0,6; para las columnas capilares no rellenas, su valor es la unidad.

La contribución de la difusión longitudinal resulta ser inversamente proporcional a la velocidad de la fase móvil. Esta relación no es sorprendente si se considera que, cuanto más alto es el caudal, más breve es el período de tiempo que el analito reside en la columna. Así, la difusión desde el centro de la banda hacia los extremos tiene menos tiempo para poder producirse. Las pendientes negativas en ambas gráficas de la Figura 26-7, a bajos caudales, son una consecuencia de la difusión longitudinal. Obsérvese que el efecto es mucho menos pronunciado en la cromatografía de líquidos, debido a que los coeficientes de difusión en líquidos son algunos órdenes de magnitud menores que los correspondientes en los gases. De hecho, para la mayoría de los líquidos B/u se aproxima a cero en

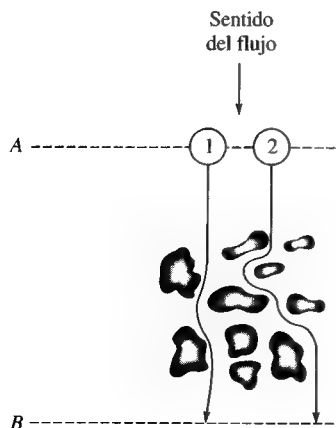


Figura 26-8. Caminos seguidos por dos moléculas durante la elución. Obsérvese que la distancia recorrida por la molécula 2 es mayor que la recorrida por la molécula 1. Así, la molécula 2 llegará más tarde a B que la molécula 1.

comparación con los otros términos de la Ecuación 26-19. Por ello, a veces, no se observa el mínimo que aparece en la Figura 26-7a.

Los coeficientes de transferencia de masa (C_s y C_M). La necesidad de introducir las dos constantes de transferencia de masa C_s y C_M en la Ecuación 26-19, se debe a que el equilibrio entre la fase móvil y la fase estacionaria se establece tan lentamente que una columna cromatográfica siempre trabaja en condiciones alejadas del equilibrio. Como consecuencia de ello, las moléculas de analito que están en el frente de una banda son arrastradas hacia adelante antes de que tengan tiempo de equilibrarse con la fase estacionaria, y que de este modo pudieran ser retenidas. Análogamente, en la cola de una banda tampoco se alcanza el equilibrio, y las moléculas se quedan atrás en la fase estacionaria debido al rápido movimiento de la fase móvil.

El ensanchamiento de banda por los efectos de transferencia de masa se debe a que tanto las muchas corrientes de flujo que tiene la fase móvil en el interior de la columna, como también la capa que constituye la fase estacionaria, poseen un ancho determinado. Como consecuencia de ello, se requiere un tiempo para que las moléculas de analito difundan desde el interior de esas fases hacia la interfase donde se produce la transferencia entre ambas. La existencia de este lapso de tiempo explica que se mantengan a lo largo de toda la columna condiciones lejanas a las del equilibrio. Si las velocidades de transferencia de masa dentro de las dos fases fuesen infinitas, no ocurriría este tipo de ensanchamiento.

Obsérvese que los ensanchamientos tanto longitudinal como de transferencia de masa dependen de la velocidad de difusión de las moléculas de analito, pero que la dirección de la difusión es distinta en los dos casos. El ensanchamiento longitudinal se presenta por la tendencia que tienen las moléculas a moverse en direcciones que tienden a ser paralelas al flujo, mientras que en el ensanchamiento por transferencia de masa se debe a la difusión que tiende a ocurrir perpendicularmente a la dirección del flujo. Por ello, la extensión del ensanchamiento longitudinal resulta estar *inversamente* relacionado con el caudal. Por el contrario, en relación con el ensanchamiento por transferencia de masa, cuanto más rápidamente se mueve la fase móvil, menos tiempo hay para que se alcance el equilibrio. De este modo, como se indica en los dos últimos términos de la Ecuación 26-19, el efecto de la transferencia de masa sobre la altura de plato es

directamente proporcional a la velocidad u del movimiento de la fase móvil.

El término de la transferencia de masa en la fase estacionaria ($C_s u$). La tercera ecuación de la Tabla 26-3 pone de manifiesto que cuando la fase estacionaria es un líquido inmovilizado, el coeficiente de transferencia de masa es proporcional a una función compleja $f_s(k')$ del factor de retención k' , y es directamente proporcional al cuadrado del grosor de la película que hay sobre las partículas del soporte d_f^2 , e inversamente proporcional al coeficiente de difusión D_s del soluto en la película. Las consecuencias de esta relación pueden entenderse teniendo en cuenta que estos factores influyen en la frecuencia promedio con la que las moléculas de analito alcanzan la interfase donde puede tener lugar la transferencia a la fase móvil. Por ejemplo, si la película es gruesa, las moléculas deberán recorrer por término medio más camino para llegar a la superficie, y con coeficientes de difusión menores, irán más despacio. La consecuencia de todo ello será una menor velocidad de transferencia de masa y un aumento de la altura de plato.

El término de la transferencia de masa en la fase móvil ($C_M u$). Como se demuestra por la cuarta ecuación de la Tabla 26-3, el coeficiente de transferencia de masa en la fase móvil C_M es una función compleja $f(k')$ del factor de retención k' , y es directamente proporcional al cuadrado del diámetro de partícula del relleno d_p^2 , y es inversamente proporcional al coeficiente de difusión en la fase móvil D_M .

Influencia de la velocidad de la fase móvil en los términos de la Ecuación 26-19. La Figura 26-9 da una idea de la bondad del ajuste de la ecuación de van Deemter a unos datos típicos. El analito eluido es acetato de bencilo disuelto en *n*-hexano que contiene un pequeño porcentaje de acetato de etilo. Los puntos de la curva superior corresponden a datos experimentales, y la curva de trazo continuo fue obtenida mediante el ajuste numérico de la ecuación de van Deemter a los datos experimentales. Las curvas inferiores en la figura muestran también la contribución de los fenómenos del camino múltiple, la difusión longitudinal y los efectos combinados de la transferencia de masa entre las fases.

Resumen de los métodos para reducir el ensanchamiento de banda. El diámetro de las partículas que constituyen el relleno, y el diámetro de la

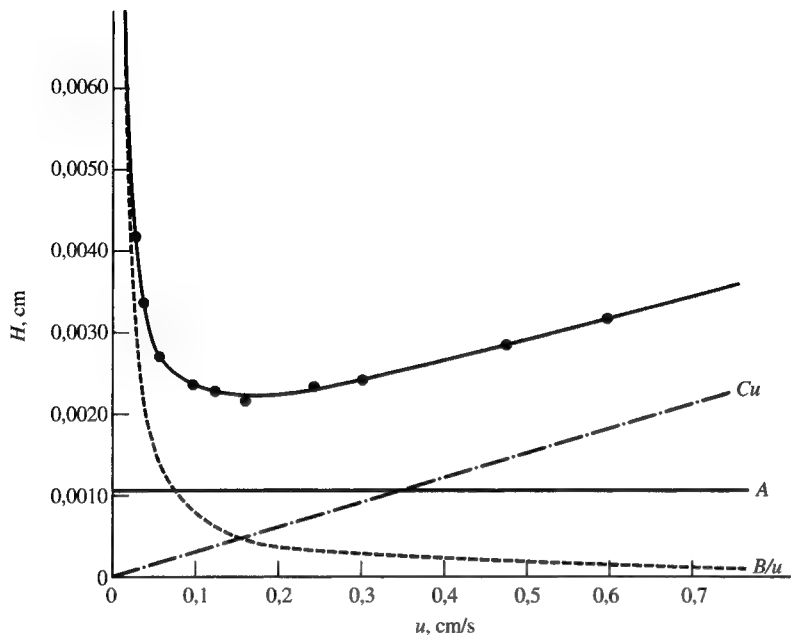
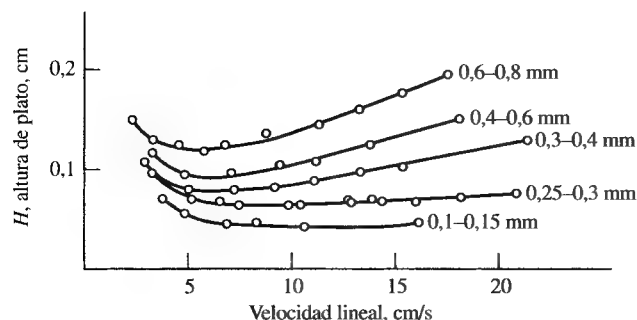


Figura 26-9. Gráfica de van Deemter para una columna cromatográfica rellena cuya fase estacionaria es líquida. Los puntos de la curva superior corresponden a valores experimentales. Las contribuciones de los distintos términos de la velocidad se muestran en las curvas inferiores: A, término del camino múltiple, B/u , difusión longitudinal, Cu , transferencia de masa para ambas fases. (Reproducción autorizada de E. Katz, K. L. Ogan y R. P. W. Scott, J. Chromatogr., 1983, 270, 51.)

columna son dos importantes variables a controlar que afectan a la eficacia de la columna. El efecto del diámetro de partícula se demuestra con los datos representados en la Figura 26-10. En los últimos años, para aprovechar el efecto del diámetro de la columna, se han utilizado columnas cada vez más y más estrechas.

Con fases móviles gaseosas, la incidencia de la difusión longitudinal puede reducirse de forma apreciable disminuyendo la temperatura y así el coeficiente de difusión D_M . Como resultado se tienen unas alturas de plato significativamente menores a bajas temperaturas. En cromatografía de líquidos este efecto no es perceptible debido a que la difusión es suficientemente lenta como para que el término de la difusión longitudinal tenga un efecto pequeño sobre la altura de plato.



Con fases estacionarias líquidas, el espesor de la capa de líquido adsorbido debería ser el menor posible, debido a que C_s en la Ecuación 26-19 es proporcional al cuadrado de esta variable d_f (véase la tercera ecuación en la Tabla 26-3).

26D. OPTIMIZACIÓN DE LA EFICACIA DE LA COLUMNA

Una separación cromatográfica se optimiza variando las condiciones experimentales hasta que los componentes de una mezcla se separan completamente en el menor tiempo posible. Los experimentos de optimización tienen como objetivo bien: (1) reducir el ensanchamiento de banda, o bien (2) modificar las velocidades relativas de migración de

Figura 26-10. Efecto del tamaño de partícula en la altura de plato. Los números de la derecha son los diámetros de partícula. (J. Boheman y J. H. Purnell, en Gas Chromatography, 1958, D. H. Desty, Ed. New York: Academic Press, 1958. Reproducción autorizada de Butterworths, Stoneham, MA.)

los componentes. Como se ha demostrado en el Apartado 26C, las variables cinéticas que incrementan la altura de plato de una columna producen un ensanchamiento de banda. Por otra parte, las velocidades de migración son modificadas por aquellas variables que afectan a los factores de retención y selectividad de la disolución (Apartado 26B).

26D-1. Resolución de la columna

La *resolución* R_s de una columna constituye una medida cuantitativa de su capacidad para separar dos analitos. En la Figura 26-11 se ilustra la significación de este término; en ella se muestran los cro-

matogramas de las especies A y B correspondientes a tres columnas con resoluciones diferentes. La resolución de una columna se define como

$$R_s = \frac{\Delta Z}{W_A/2 + W_B/2} = \frac{2\Delta Z}{W_A + W_B}$$

$$= \frac{2[(t_R)_B - (t_R)_A]}{W_A + W_B} \quad (26-20)$$

donde todos los términos en la parte derecha de la ecuación se hacen patentes en la figura.

Resulta evidente, a partir de la Figura 26-11, que una resolución de 1,5 permite una separación

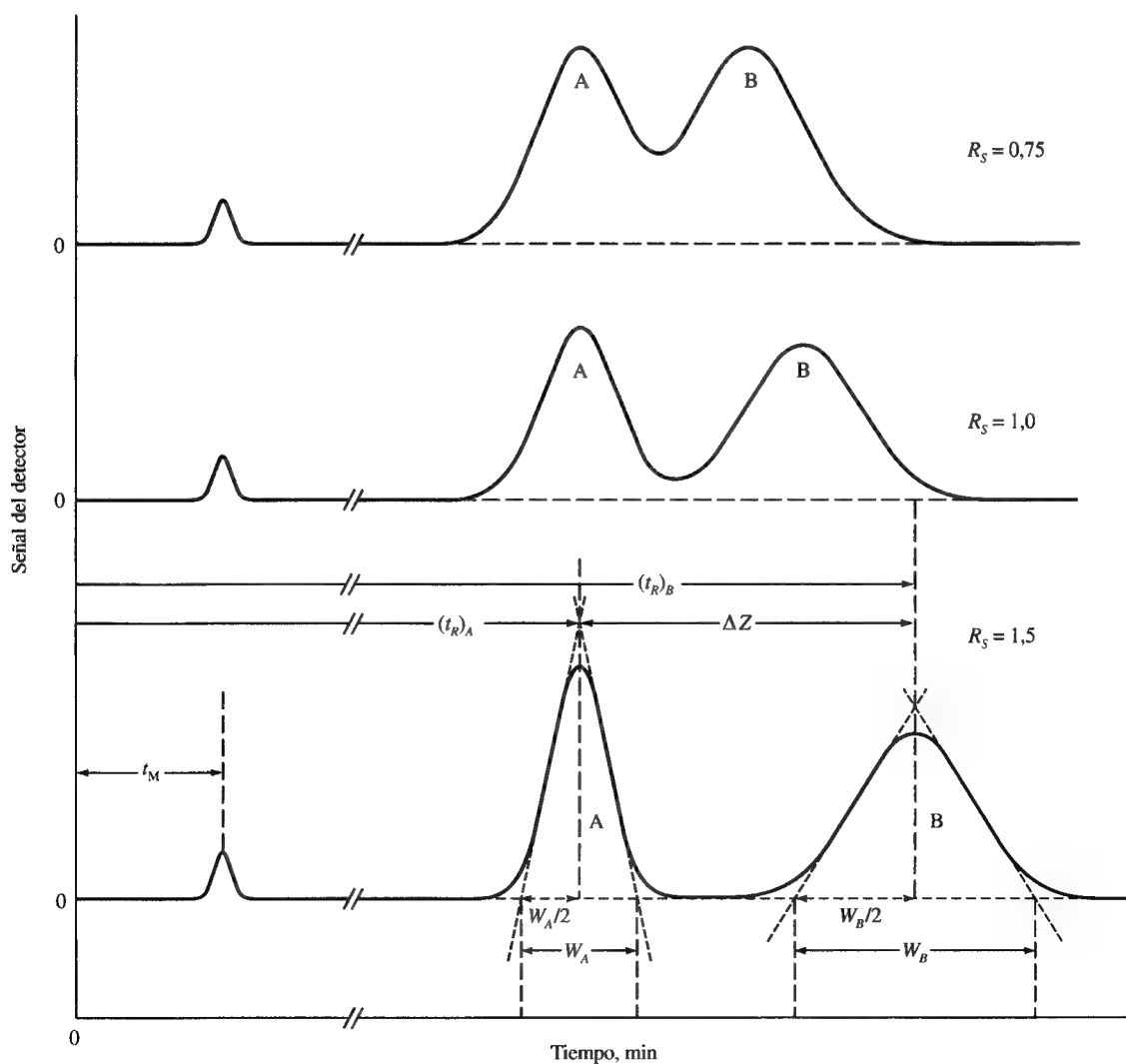


Figura 26-11. Separaciones correspondientes a tres resoluciones distintas. Donde, $R_s = 2\Delta Z/(W_A + W_B)$.

esencialmente completa de los dos componentes, mientras que no es así con una resolución de 0,75. Con una resolución de 1,0, la zona de A contiene aproximadamente un 4 por 100 de B, y la zona de B contiene una cantidad similar de A. Con una resolución de 1,5, el solapamiento es del orden de un 0,3 por 100. Para una fase estacionaria dada, la resolución puede mejorarse alargando la columna, aumentando así el número de platos. Una consecuencia negativa del aumento del número de platos es el incremento del tiempo requerido para la separación.

26D-2. Influencia de los factores de retención y selectividad sobre la resolución

Resulta conveniente desarrollar una ecuación matemática que relacione la resolución de una columna con los factores de retención k'_A y k'_B de dos solutos, el factor de selectividad α , y el número de platos N correspondientes a la columna. Con esta finalidad, se asume que los solutos A y B tienen tiempos de retención suficientemente próximos como para considerar:

$$W_A = W_B \approx W$$

Así, la Ecuación 26-20 se transforma en:

$$R_s = \frac{(t_R)_B - (t_R)_A}{W}$$

La Ecuación 26-17 permite sustituir W en función de $(t_R)_B$ y N en la ecuación anterior, lo que da

$$R_s = \frac{(t_R)_B - (t_R)_A}{(t_R)_B} \times \frac{\sqrt{N}}{4}$$

Sustituyendo la Ecuación 26-8 y reordenando se obtiene una expresión de R_s en términos de los factores de retención para A y B. Esto es,

$$R_s = \frac{k'_B - k'_A}{1 + k'_B} \times \frac{\sqrt{N}}{4}$$

Al eliminar k'_A de esta expresión por sustitución de la Ecuación 26-10 y reordenando se obtiene

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k'_B}{1 + k'_B} \right) \quad (26-21)$$

A menudo es conveniente calcular el número de platos teóricos necesarios para conseguir una determinada resolución. Reordenando la Ecuación 26-21 se obtiene la siguiente expresión para este cálculo al dar

$$N = 16R_s^2 \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \left(\frac{1 + k'_B}{k'_B} \right)^2 \quad (26-22)$$

En ocasiones se encuentran formas simplificadas de la Ecuaciones 26-21 y 26-22 aplicables a pares de solutos cuyos coeficientes de distribución son tan similares que hacen difícil su separación. De este modo, cuando $K_A \approx K_B$ a partir de la Ecuación 26-5 se deduce que $k'_A \approx k'_B = k'$, y a partir de la Ecuación 26-9, que $\alpha \rightarrow 1$. Con estas aproximaciones, las Ecuaciones 26-21 y 26-22 se reducen a

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} (\alpha - 1) \left(\frac{k'}{1 + k'} \right) \quad (26-23)$$

$$N = 16R_s^2 \left(\frac{1}{\alpha - 1} \right)^2 \left(\frac{1 + k'}{k'} \right)^2 \quad (26-24)$$

donde k' es la media de k'_A y k'_B .

26D-3. Efecto de la resolución sobre el tiempo de retención

Antes de considerar en detalle la significación de las cuatro ecuaciones anteriormente obtenidas, resulta útil desarrollar una ecuación para una característica relacionada con la eficacia de la columna, se trata del tiempo necesario para completar la separación de los solutos A y B. Es evidente, que en cromatografía es deseable tener la mayor resolución en el menor tiempo posible. Desafortunadamente, estas dos propiedades no se pueden llevar a su valor máximo para las mismas condiciones, y por tanto siempre se debe adoptar una solución de compromiso.

El tiempo necesario para completar una separación se determina por la velocidad $\bar{v}_B$ del soluto que se mueve más lentamente, y viene dado por la Ecuación 26-2. Esto es,

$$\bar{v}_B = \frac{L}{(t_R)_B}$$

Combinando esta expresión con la 26-6 y la 26-12 y después de reordenar se obtiene:

$$(t_R)_B = \frac{NH(1 + k'_B)}{u}$$

donde $(t_R)_B$ es el tiempo necesario para que salga de la columna el pico de B cuando la velocidad de la fase móvil es u . Cuando esta ecuación se combina con la 26-22 y se reordena, se encuentra que

$$(t_R)_B = \frac{16R_s^2 H}{u} \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \frac{(1 + k'_B)^3}{(k'_B)^2} \quad (26-25)$$

26D-4. Variables que afectan a la eficacia de la columna

Las Ecuaciones 26-21 y 26-25 son importantes porque sirven de guía para la elección de aquellas condiciones que puedan permitir al usuario del cromatógrafo conseguir el objetivo, a veces difícil, de una buena separación en un tiempo mínimo. Un examen de estas ecuaciones revela que se componen de tres partes. La primera, incluye $\sqrt{N}$ o H/u , se relaciona con los efectos cinéticos que conducen al ensanchamiento de banda. La segunda y tercera parte se relacionan con los factores termodinámicos de los constituyentes a separar, es decir, con la magnitud relativa de sus constantes de distribución y los volúmenes de las fases móvil y estacionaria. El segundo término en las Ecuaciones 26-21 y 26-25, que es el cociente en que aparece α , es un término de la selectividad y depende únicamente de las propiedades de los dos solutos. El tercer término, el cociente en que aparece k'_B , depende de las propiedades tanto del soluto como de la columna.

Al buscar las condiciones óptimas para conseguir una separación adecuada, debe tenerse en cuenta que los parámetros fundamentales, α , k' , y N (o H) se pueden ajustar más o menos independientemente. De este modo, la manera más fácil de modificar α y k' es variando la temperatura o la composición de la fase móvil. Aunque es menos conveniente, puede conseguirse también cambiando el relleno de la columna. Como ya se ha visto, es posible cambiar N modificando la longitud de la columna, y H por alteración del caudal de la fase móvil, el tamaño de partícula del relleno, la viscosidad de la fase móvil (y así D_M o D_S), y el espesor

de la película del líquido adsorbido que constituye la fase estacionaria (véase Tabla 26-2).

Variación de N

Una forma obvia de mejorar la resolución es aumentar el número de platos teóricos de la columna (Ecuación 26-21). Tal como se demuestra en el siguiente Ejemplo 26-1, este recurso normalmente es costoso en términos de tiempo necesario para completar la separación, a no ser que el aumento de N se lleve a cabo mediante una reducción de H en vez de por alargamiento de la columna.

EJEMPLO 26-1

Las sustancias A y B tienen los tiempos de retención de 16,40 y de 17,63 minutos, respectivamente, en una columna de 30,0 cm. Una especie que no se retiene pasa a través de la columna en 1,30 minutos. Las anchuras de pico (en la base) para A y B son 1,11 y 1,21 minutos, respectivamente. Calcular: (a) la resolución de la columna; (b) el número de platos promedio de la columna; (c) la altura de plato; (d) la longitud de la columna necesaria para conseguir una resolución de 1,5; (e) el tiempo necesario para que la sustancia B eluya en la columna más larga y (f) la altura de plato necesaria para obtener una resolución de 1,5 utilizando la columna original de 30,0 cm y en el tiempo dado originalmente.

Sustituyendo en la Ecuación 26-20 se obtiene

$$\begin{aligned} \text{(a)} \quad R_s &= \frac{2(17,63 \text{ min} - 16,40 \text{ min})}{(1,11 \text{ min} + 1,21 \text{ min})} \\ &= 1,06 \end{aligned}$$

(b) La Ecuación 26-17 permite el cálculo de N . Así,

$$N = 16 \left(\frac{16,40 \text{ min}}{1,11 \text{ min}} \right)^2 = 3,49 \times 10^3$$

y

$$N = 16 \left(\frac{17,63 \text{ min}}{1,21 \text{ min}} \right)^2 = 3,40 \times 10^3$$

$$\begin{aligned} N_{av} &= \left(\frac{3,49 \times 10^3 + 3,40 \times 10^3}{2} \right) \\ &= 3,44 \times 10^3 = 3,4 \times 10^3 \end{aligned}$$

$$(c) \quad H = L/N = \frac{30,0 \text{ cm}}{3,44 \times 10^3} \\ = 8,7 \times 10^{-3} \text{ cm}$$

- (d) k' y α no cambian al aumentar N y L . De este modo, sustituyendo N_1 y N_2 en la Ecuación 26-21 y dividiendo las ecuaciones miembro a miembro, se obtiene

$$\frac{(R_s)_1}{(R_s)_2} = \frac{\sqrt{N_1}}{\sqrt{N_2}}$$

donde los subíndices 1 y 2 se refieren, respectivamente, a las columnas original y a la más larga. Sustituyendo los valores apropiados de N_1 , $(R_s)_1$, y $(R_s)_2$ se tiene

$$\frac{1,06}{1,5} = \frac{\sqrt{3,44 \times 10^3}}{\sqrt{N_2}} \\ N_2 = 3,44 \times 10^3 \left(\frac{1,5}{1,06} \right)^2 = 6,9 \times 10^3$$

Al sustituir en la Ecuación 26-12 se obtiene

$$L = N \times H \\ = 6,9 \times 10^3 \times 8,7 \times 10^{-3} \text{ cm} = 60 \text{ cm}$$

- (e) Sustituyendo $(R_s)_1$ y $(R_s)_2$ en la Ecuación 26-25 y dividiendo se tiene

$$\frac{(t_R)_1}{(t_R)_2} = \frac{(R_s)_1^2}{(R_s)_2^2} = \frac{17,63}{(t_R)_2} = \frac{(1,06)^2}{(1,5)^2}$$

y

$$(t_R)_2 = 35 \text{ min}$$

Así, para obtener una mejora en la resolución y alcanzar 1,5 es necesario doblar aproximadamente el tiempo de la separación.

- (f) Sustituyendo H_1 y H_2 en la Ecuación 26-25 y dividiendo la primera de las ecuaciones resultantes por la segunda se tiene

$$\frac{(k'_B)_1}{(k'_B)_2} = \frac{(R_s)_1^2}{(R_s)_2^2} \times \frac{H_1}{H_2}$$

donde los subíndices 1 y 2 se refieren a la altura de plato original y a la nueva, respectivamente. Reordenando se obtiene

$$H_2 = H_1 \frac{(R_s)_1^2}{(R_s)_2^2} = 8,7 \times 10^{-3} \text{ cm} \frac{(1,06)^2}{(1,5)^2} \\ = 4,3 \times 10^{-3} \text{ cm}$$

De esta forma, para conseguir una resolución de 1,5 en 17,63 minutos y con una columna de 30,0 cm, la altura de plato tendría que reducirse a la mitad.

Variación de H

En el Ejemplo 26-1f se ha demostrado que puede conseguirse una importante mejora de la resolución sin repercutir en el tiempo si se puede reducir la altura de plato. En la Tabla 26-3 se indican las variables que pueden modificarse para conseguir este objetivo. Obsérvese que la disminución en el tamaño de partícula del relleno conducen a importantes mejoras de H . Con fases móviles líquidas, donde B/u normalmente es despreciable, reduciendo la viscosidad del disolvente se pueden conseguir menores alturas de plato, al aumentar así los coeficientes de difusión en la fase móvil.

Variación del factor de retención

Muchas veces una separación se puede mejorar significativamente manipulando el factor de retención k'_B . Los incrementos de k'_B generalmente aumentan la resolución (pero a expensas del tiempo de elución). Para determinar el intervalo óptimo de los valores de k'_B , es conveniente escribir la Ecuación 26-21 en la forma

$$R_s = \frac{Qk'_B}{1 + k'_B}$$

y la Ecuación 26-25 como

$$(t_R)_B = Q' \frac{(1 + k'_B)^3}{(k'_B)^2}$$

donde Q y Q' contienen el resto de los términos de las dos ecuaciones. La Figura 26-12 es una representación gráfica de R_s/Q y de $(t_R)_B/Q'$ en función de k'_B , suponiendo que Q y Q' se mantienen aproxi-

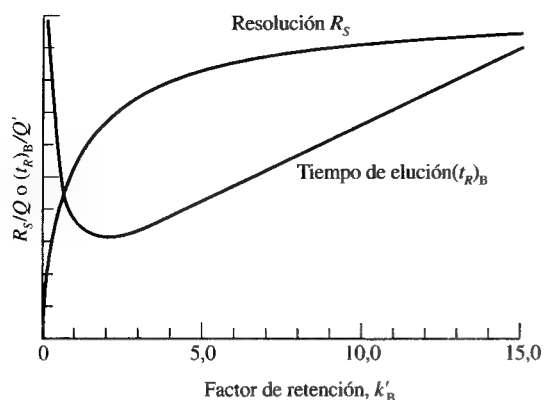


Figura 26-12. Influencia del factor de retención k'_B en la resolución R_s y en el tiempo de elución $(t_R)_B$. Se supone que Q y Q' se mantienen constantes al variar k'_B .

madamente constantes. Resulta evidente que los valores de k'_B mayores de 10 tienen que evitarse debido a que proporcionan poco aumento en la resolución, y un marcado incremento del tiempo necesario para las separaciones. El mínimo en la curva del tiempo de elución se encuentra a un valor de k'_B alrededor de 2. A menudo, pues, el valor óptimo de k'_B , teniendo en cuenta tanto la resolución como el tiempo de elución, se encuentra en el intervalo de 1 a 5.

Por lo general, la forma más fácil de mejorar la resolución es optimizando k' . Con fases móviles

gaseosas, k' puede mejorarse a menudo aumentando la temperatura. Con fases móviles líquidas, el cambio en la composición del disolvente muchas veces permite la manipulación de k' de tal manera que se obtienen mejores separaciones. La Figura 26-13 muestra un ejemplo del efecto decisivo que puede ocasionar un cambio relativamente pequeño de la composición del disolvente. En este caso, variaciones moderadas en la relación metanol/agua convierten cromatogramas no satisfactorios (a y b) en otros donde los picos de cada uno de los componentes se encuentran bien separados (c y d). Para la mayoría de los fines, el cromatograma que se muestra en (c) sería el mejor, debido a que presenta una resolución adecuada en un tiempo mínimo.

Variación del factor de selectividad

Cuando α se aproxima a la unidad, optimizar k' y aumentar N no suele ser suficiente para conseguir una separación satisfactoria de dos solutos en un tiempo razonable. En estas circunstancias, se ha de buscar un procedimiento para aumentar α mientras k' se mantiene en el intervalo óptimo de 1 a 10. Se dispone de varias opciones; en orden decreciente de conveniencia, determinada ésta por sus expectativas y comodidad, las opciones incluyen: (1) cambiar la composición de la fase móvil, incluyendo los cambios en el pH; (2) cambiar la temperatura de la columna; (3) cambiar la naturaleza de la fase

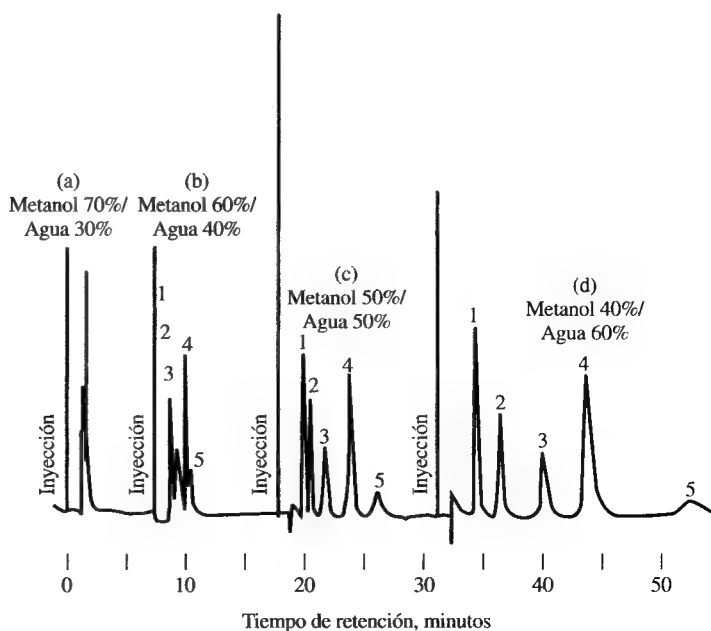


Figura 26-13. Efecto del cambio de la composición del eluyente en los cromatogramas. Analitos: (1) 9,10-antraquinona; (2) 2-metil-9,10-antraquinona; (3) 2-etil-9,10-antraquinona; (4) 1,4-dimetil-9,10-antraquinona; (5) 2-*t*-butil-9,10-antraquinona. (Cortesía de DuPont Instrument Systems, Wilmington, DE.)

estacionaria; (4) utilizar efectos químicos especiales.

Un ejemplo de la opción (1) es el que se ha propuesto para la separación del anisol ($C_6H_5OCH_3$) y el benceno¹¹. Con una fase móvil metanol/agua al 50 por 100, la k' para los dos solutos era, respectivamente, 4,5 y 4,7, mientras que la α era sólo de 1,04. La sustitución por una fase móvil acuosa conteniendo un 37 por 100 de tetrahidrofurano dio valores de k' de 3,9 y 4,7 y un valor de α de 1,20. El solapamiento de picos sera significativo con el primer disolvente y despreciable con el segundo.

Para las separaciones que implican a ácidos o bases ionizables, muchas veces los cambios en el pH de la fase móvil permiten la manipulación de los valores de α sin cambios importantes en k' , con lo que aumenta la eficacia de la separación.

Un método menos conveniente, pero con frecuencia muy efectivo, de mejorar α y mantener los valores de k' en su intervalo óptimo consiste en cambiar la composición química de la fase estacionaria. A fin de aprovechar esta opción, la mayoría de laboratorios que realizan separaciones cromatográficas frecuentes, disponen de varias columnas, las cuales se pueden intercambiar fácilmente.

Los incrementos en la temperatura normalmente causan aumentos en k' , pero tienen poca influencia sobre los valores de α en cromatografía líquido-líquido y líquido-sólido. Por el contrario, en la cromatografía de intercambio iónico, puede tener efectos lo suficientemente grandes como para explorar esta valiosa opción antes que recurrir al cambio del relleno de la columna.

Un último procedimiento para aumentar la resolución consiste en incorporar a la fase estacionaria una especie que forme complejos o que interaccione de otra forma con uno o más componentes de la muestra. Un ejemplo bien conocido de la utilidad de esta opción consiste en el uso de un adsorbente impregnado con una sal de plata, con lo que se mejora la separación de olefinas debido a la formación de complejos entre los iones plata y los compuestos orgánicos insaturados.

26D-5. El problema general de la elución

La Figura 26-14 muestra unos cromatogramas hipotéticos para una mezcla de seis componentes for-

mada por tres pares de sustancias que difieren ampliamente en sus coeficientes de distribución y por tanto en sus factores de retención. En el cromatograma (a), las condiciones se han ajustado de tal forma que los factores de retención de los componentes 1 y 2 (k'_1 y k'_2) están en el intervalo óptimo de 2 a 5. Sin embargo, los factores de retención correspondientes a los otros componentes están muy alejados del intervalo óptimo. De este modo, los picos de los componentes 5 y 6 aparecen tras un tiempo desmesurado; además, esos picos están tan ensanchados que puede ser difícil identificarlos inequívocamente. Como se muestra en el cromatograma (b), el cambio de las condiciones para optimizar la separación de los componentes 5 y 6 hace que los picos de los cuatro primeros componentes se agrupen de tal modo que su resolución no sea satisfactoria. Sin embargo, en estas circunstancias el tiempo de elución resulta ser ideal. En una tercera serie de condiciones, en las que los valores de k' son óptimos para los componentes 3 y 4, se obtiene el cromatograma (c). De nuevo, la separación de los otros dos pares de componentes no es enteramente satisfactoria.

El fenómeno ilustrado en la Figura 26-14 se da con la suficiente frecuencia como para darle un nombre *el problema general de la elución*. Una solución frecuente para este problema es cambiar las condiciones que determinan los valores de k' mientras tiene lugar la separación. Esos cambios se pueden realizar por etapas o de forma continua. De este modo, para la mezcla que se muestra en la Figura 26-14, las condiciones al principio podrían ser las que corresponden al cromatograma (a). Sin embargo, inmediatamente después de la elución de los componentes 1 y 2, las condiciones se podrían cambiar a las que resultaban óptimas para la separación de los componentes 3 y 4, como en el cromatograma (c). Tras la aparición de los picos de esos componentes, la elución se podría completar en las condiciones que permiten obtener el cromatograma (b). A menudo, con este procedimiento se obtienen, en un tiempo mínimo, picos satisfactorios para todos los componentes de una mezcla.

En cromatografía de líquidos, las variaciones de k' se obtienen por variaciones en la composición de la fase móvil durante la elución (*elución con gradiente o programación del disolvente*). En cromatografía de gases, el incremento de la temperatura (*programación de la temperatura*) permite conseguir las condiciones óptimas para las separaciones.

¹¹ L. R. Snyder y J. J. Kirkland, *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, 2.ª ed., pág. 75. New York: Wiley, 1979.

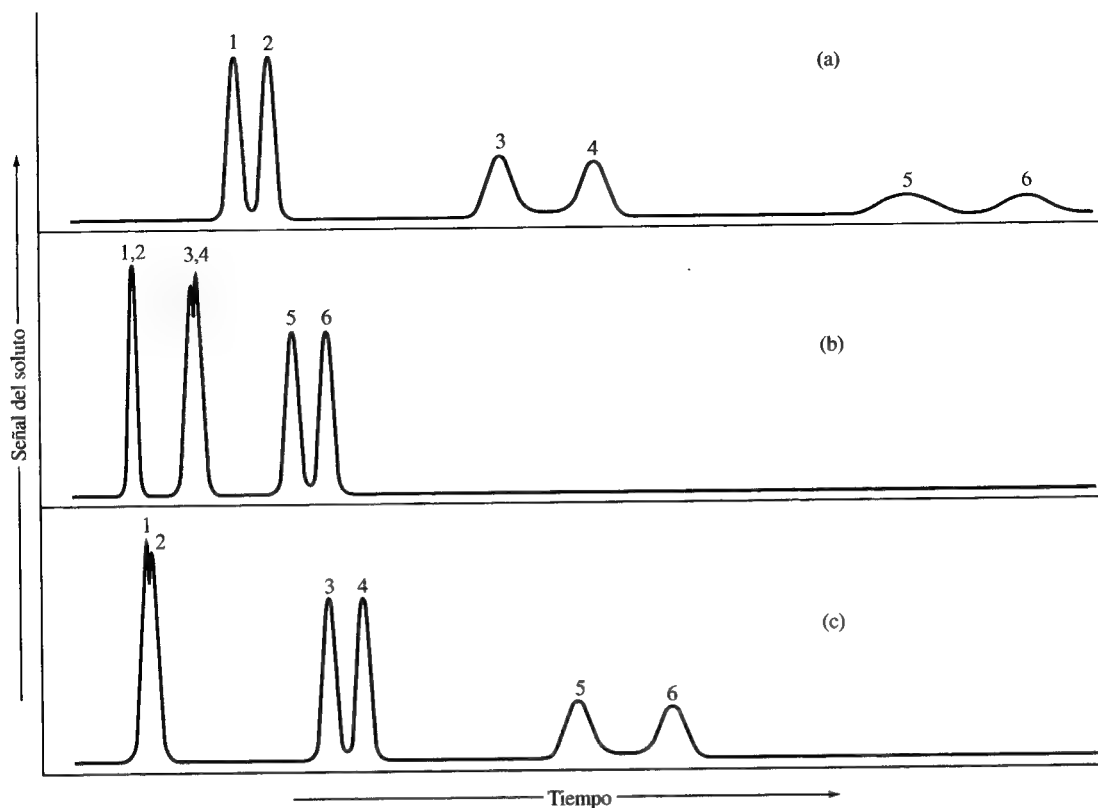


Figura 26-14. El problema general de la elución en cromatografía.

26E. RESUMEN DE LAS ECUACIONES DE INTERÉS EN CROMATOGRAFÍA

El número de parámetros, términos y ecuaciones que se emplean en cromatografía es grande y a menudo confuso. En las Tablas 26-4 y 26-5 se resumen las ecuaciones y definiciones más importantes que se utilizarán en los tres capítulos siguientes.

26F. APLICACIONES DE LA CROMATOGRAFÍA

La cromatografía ha llegado a ser el principal método para la separación de especies químicas estrechamente relacionadas entre sí. Además, se puede emplear para la identificación cualitativa y para la determinación cuantitativa de las especies separadas¹². En este apartado se consideran algunas de las

características generales de la cromatografía como una herramienta para la realización de un análisis.

26F-1. Análisis cualitativo

Un cromatograma proporciona sólo un elemento de información cualitativa a cerca de cada una de las especies de la muestra, a saber, su tiempo de retención o su posición en la fase estacionaria tras un cierto período de elución. Por supuesto que, a partir de cromatogramas obtenidos con diferentes fases móviles y estacionarias y a diversas temperaturas de elución, se pueden obtener datos adicionales. A pesar de todo, la cantidad de información que se puede obtener por cromatografía es pequeña comparada con la que proporciona un solo espectro de IR, RMN, o de masas. Además, la longitud de onda espectral o los datos de frecuencia de los espectros se pueden determinar con mucha más precisión que los equivalentes cromatográficos (t_R).

Lo anterior no significa que la cromatografía carezca de importantes aplicaciones cualitativas,

¹² Artículo de revisión sobre el desarrollo reciente y las aplicaciones analíticas de la cromatografía, véase M. V. Novotny, *Science*, **1989**, 246, 51; *LC-GC*, **1992**, 10, 211.

TABLA 26-4. Parámetros cromatográficos experimentales y relaciones de interés

Nombre	Símbolo del parámetro experimental	Determinación
Tiempo de migración, especies no retenidas	t_M	Cromatograma (Fig. 26-6)
Tiempos de retención, especies A y B	$(t_R)_A, (t_R)_B$	Cromatograma (Fig. 26-6)
Tiempo de retención ajustado, especie A	$(t'_R)_A$	$(t'_R)_A = (t_R)_A - t_M$
Anchuras de pico, especies A y B	W_A, W_B	Cromatograma (Fig. 26-6)
Longitud del relleno de la columna	L	Medida directa
Caudal	F	Medida directa
Volumen de la fase estacionaria	V_S	Datos de preparación del relleno
Concentración del analito en las fases móvil y estacionaria	c_M o c_S	Datos del análisis y de la preparación

pues está claro que es una herramienta que se utiliza ampliamente para reconocer la presencia o ausencia de componentes en mezclas que contengan un número limitado de posibles especies de las

que se conozca su identidad. Por ejemplo, mediante un cromatograma se pueden detectar, en el hidrolizado de una proteína, 30 o más aminoácidos con un grado de certeza relativamente alto. No obs-

TABLA 26-5. Ecuaciones y parámetros de interés

Nombre	Ecuación	Relación con otros parámetros
Velocidad lineal de la fase móvil	$u = L/t_M$	
Volumen de la fase móvil	$V_M = t_M F$	
Factor de retención	$k' = (t_R - t_M)/t_M$	$k' = \frac{KV_S}{V_M}$
Coeficiente de distribución	$K = \frac{k' V_M}{V_S}$	$K = \frac{c_S}{c_M}$
Factor de selectividad	$\alpha = \frac{(t_R)_B - t_M}{(t_R)_A - t_M}$	$\alpha = \frac{k'_B}{k'_A} = \frac{K_B}{K_A}$
Resolución	$R_s = \frac{2[(t_R)_B - (t_R)_A]}{W_A + W_B}$	$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k'_B}{1 + k'_B} \right)$
Número de platos	$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2$	$N = 16 R_s^2 \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \left(\frac{1 + k'_B}{k'_B} \right)^2$
Altura de plato	$H = L/N$	
Tiempo de retención	$(t_R)_B = \frac{16 R_s^2 H}{u} \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \frac{(1 + k'_B)^3}{(k'_B)^2}$	

tante, aun así, la confirmación de la identidad requiere la investigación química o espectral de los componentes aislados. Es de subrayar, sin embargo, que una identificación espectroscópica positiva sería normalmente imposible, sobre una mezcla tan compleja como la anterior, sin una separación cromatográfica previa. Por tanto, la cromatografía es con frecuencia una etapa vital en los análisis espectroscópicos cualitativos.

Es importante considerar que, aunque los cromatogramas no conducen a una identificación positiva de las especies presentes en una muestra, proporcionan a menudo la evidencia segura de la *ausencia* de ciertos compuestos. Así, si en la muestra no aparece un pico con el mismo tiempo de retención que el patrón en las mismas condiciones, se puede asumir que el compuesto en cuestión está ausente (o está presente a una concentración por debajo del límite de detección del procedimiento).

26F-2. Análisis cuantitativo

La cromatografía debe su crecimiento espectacular durante las pasadas cuatro décadas en parte a su rapidez, sencillez, relativamente bajo coste, y a su gran aplicabilidad como herramienta de separación. No obstante, resultaría dudoso que su uso se hubiera extendido tanto si no fuera porque puede también proporcionar información cuantitativa acerca de las especies separadas. Es importante, por consiguiente, tratar algunos de los aspectos cuantitativos aplicables a todos los tipos de cromatografía.

La cromatografía en columna cuantitativa se basa en la comparación de la altura, o del área, del pico del analito con la de uno o más patrones. En cromatografía en plano, el área ocupada por las especies separadas sirve como parámetro analítico. Si se controlan las condiciones adecuadamente, esos parámetros varían linealmente con la concentración.

Análisis basados en la altura del pico

La altura de un pico cromatográfico se obtiene uniendo las líneas base a cada lado del pico por una línea recta, y midiendo la distancia vertical desde esta línea al pico. Esta medida normalmente se puede hacer con una precisión razonablemente buena. Es importante considerar, sin embargo, que las alturas de pico están inversamente relacionadas con las anchuras de pico. Por ello, con las alturas de pico se obtienen resultados exactos sólo si las

variaciones en las condiciones de la columna durante el tiempo necesario para obtener los cromatogramas de la muestra y de los patrones no alteran las anchuras de pico. Las variables que deben controlarse estrechamente son la temperatura de la columna, el caudal del eluyente y la velocidad de inyección de la muestra. Además, se ha de tener mucho cuidado para evitar la sobrecarga de la columna. El efecto de la velocidad de inyección de la muestra es particularmente crítico para los primeros picos del cromatograma. Al efectuar la inyección con jeringa no es extraño que se originen errores relativos del 5 al 10 por 100.

Análisis basados en las áreas de los picos

El área de pico es independiente de los efectos del ensanchamiento debido a las variables que se han mencionado en el párrafo anterior. Desde este punto de vista, por tanto, las áreas son un parámetro analítico más adecuado que las alturas de pico. Por otra parte, las alturas de pico se miden más fácilmente y, para picos estrechos, se determinan con mayor exactitud.

Los instrumentos cromatográficos más modernos están equipados con integradores electrónicos digitales, los cuales permiten una precisa estimación de las áreas de pico. Si no se dispone de tales equipos, tiene que hacerse una estimación manual. Un método sencillo, que resulta adecuado para picos simétricos y de ancho razonable, consiste en multiplicar la altura del pico por su anchura a la mitad de su altura. Otros métodos implican el uso de un planímetro o recortar el pico y determinar su peso relativo al peso de un área conocida de papel de registro. En general, las técnicas de integración manual proporcionan áreas que son reproducibles a un nivel del 2 al 5 por 100; los integradores digitales son al menos un orden de magnitud más precisos¹³.

Calibración y patrones

El método más sencillo para el análisis cromatográfico cuantitativo implica la preparación de una serie de disoluciones de patrón de composición parecida a la de la muestra. A continuación se obtienen los cromatogramas de los patrones y se representan las alturas o áreas de pico en función de la concentración. La representación gráfica de los da-

¹³ Véase *Chromatographic Integration Methods*, R. M. Smith, Ed.: Boca Raton, FL, 1990.

tos debería originar una línea recta que pasara por el origen de coordenadas; los análisis se basan en esta gráfica. Para una mayor exactitud es necesario una recalibración frecuente.

Al utilizar este método, la fuente más importante de error en los análisis es normalmente la incertidumbre en el volumen de la muestra; a veces, la velocidad de inyección de la muestra es también un factor a considerar. A menudo, las muestras son pequeñas ($\sim 1 \mu\text{L}$), y la incertidumbre asociada con la inyección de un volumen reproducible de este tamaño con una microjeringa puede significar un cierto porcentaje relativo, tal vez de varias unidades. La situación es más significativa en la cromatografía gas-líquido, donde la muestra se ha de inyectar en un bloque de inyección caliente; en este caso, la evaporación en el extremo de la aguja puede conducir a una gran variación del volumen inyectado. Los errores relativos en el volumen de muestra inyectado se pueden reducir a un 1 o 2 por 100 utilizando una válvula rotatoria semejante a la que se indica en la Figura 27-4.

El método del patrón interno

En cromatografía cuantitativa la mayor precisión se consigue por el uso de patrones internos debido a que se evitan las incertidumbres asociadas a la inyección de la muestra. En este procedimiento, se introduce en cada estándar y en la muestra una cantidad exactamente medida del patrón interno, y la

relación de las áreas (o alturas) del analito y del patrón interno sirve como parámetro analítico. Para poder aplicar este método satisfactoriamente, es necesario que el pico del patrón interno esté bien separado de los picos de los demás componentes de la muestra ($R_s > 1,25$); por otra parte, el pico del patrón debería aparecer cerca del pico del analito. Con un patrón interno adecuado, se pueden conseguir, normalmente, precisiones relativas mejores que el 1 por 100.

El método de la normalización de las áreas

Otro procedimiento que evita las incertidumbres asociadas con la inyección de la muestra es el método de la normalización de las áreas. Es necesario que se produzca la elución completa de todos los componentes de la muestra. En el método de la normalización, se determinan las áreas de todos los picos eluidos; tras corregir esas áreas debido a las diferencias en la respuesta del detector a los distintos tipos de compuestos, la concentración del analito se calcula por la relación de su área con el área total de los picos. El siguiente ejemplo ilustra el procedimiento.

Desgraciadamente, en la práctica, es difícil conseguir unas condiciones en las que todos los componentes de la mezcla eluyan de la columna en un período de tiempo razonable. Por tanto, el método de la normalización de las áreas tiene aplicaciones limitadas.

EJEMPLO 26-2

El método de la normalización de las áreas se aplicó para la determinación de una mezcla de los alcoholes: *n*-butílico, *iso*-butílico, *sec*-butílico y *terc*-butílico. Con la finalidad de obtener el factor

de respuesta relativa, se preparó una disolución patrón de los alcoholes y se inyectó en el cromatógrafo de gases. Los resultados del cromatograma obtenido fueron los siguientes:

Alcohol	Peso tomado, g	% de alcohol en peso	Área de pico, A, cm ²	% en peso por unidad de área	Factor de respuesta relativa, F
<i>n</i> -butílico	0,1731	24,61	3,023	8,141	1,000
<i>iso</i> -butílico	0,1964	27,92	3,074	9,083	1,116
<i>sec</i> -butílico	0,1514	21,52	3,112	6,915	0,849
<i>terc</i> -butílico	0,1826	25,96	3,004	8,642	1,062
$\Sigma \text{ wt} = 0,7035$		$\Sigma \% = 100,00$	$\Sigma A = 12,213$		

Los factores de respuesta relativa se obtuvieron por división de los datos de la columna 5 por 8,141 que es el primer dato de la citada columna.

Para una muestra que contiene sólo los cuatro alcoholes se obtuvieron los siguientes datos. Calcular el porcentaje, en peso, de cada alcohol en la citada muestra.

Alcohol	Área de pico, cm^2	Área $\times F$	% en peso de alcohol
<i>n</i> -butílico	1,731	1,731	18,18
<i>iso</i> -butílico	3,753	4,188	43,99
<i>sec</i> -butílico	2,845	2,415	25,36
<i>terc</i> -butílico	1,117	1,186	12,46
$\Sigma = 9,521$			99,99

26G. CUESTIONES Y PROBLEMAS

26-1. Definir:

- | | |
|---------------------------------|------------------------------|
| (a) elución | (g) factor de selectividad |
| (b) fase móvil | (h) altura de plato |
| (c) fase estacionaria | (i) difusión longitudinal |
| (d) coeficiente de distribución | (j) difusión en remolino |
| (e) tiempo de retención | (k) resolución de la columna |
| (f) factor de retención | (l) eluyente |

26-2. Describir el problema general de la elución.

26-3. Enumerar las variables que originan el ensanchamiento de banda.

26-4. ¿Cuál es la diferencia entre la cromatografía gas-líquido y líquido-líquido?

26-5. ¿Cuál es la diferencia entre la cromatografía líquido-líquido y líquido-sólido?

26-6. ¿Qué variables son las que más probablemente afectan al valor de α , correspondiente a un par de analitos?

26-7. ¿Cómo puede modificarse el factor de retención de un soluto?

26-8. Describir un método para la determinación del número de platos de una columna.

26-9. ¿Cuáles son los efectos de la variación de temperatura en los cromatogramas?

26-10. ¿Por qué el mínimo en el gráfico de la altura de plato frente el caudal se encuentra a menores valores de caudal en cromatografía de líquidos que en cromatografía de gases?

26-11. ¿Qué es la elución con gradiente?

26-12. Los siguientes datos corresponden a una columna para cromatografía de líquidos:

longitud del relleno	24,7 cm
caudal	0,313 mL/min
V_M	1,37 mL
V_S	0,164 mL

El cromatograma de una mezcla de especies A, B, C y D proporciona los siguientes datos:

	Tiempo de retención, min	Anchura del pico en la base (W), min
no retenido	3,1	—
A	5,4	0,41
B	13,3	1,07
C	14,1	1,16
D	21,6	1,72

Calcular

- El número de platos para cada pico.
- La media y la desviación estándar de N .
- La altura de plato de la columna.

26-13. Con los datos del Problema 26-12, calcular para los picos A, B, C y D

- El factor de retención.
- El coeficiente de distribución.

26-14. Con los datos del Problema 26-12 para las especies B y C, calcular

- La resolución.
- El factor de selectividad, α .
- La longitud de columna necesaria para tener una resolución de 1,5.
- El tiempo necesario para separar B y C con una resolución de 1,5.

26-15. Con los datos de Problema 26-12 para las especies C y D, calcular

- La resolución.
- La longitud de columna necesaria para tener una resolución de 1,5.

26-16. Con un cromatógrafo gas-líquido y con una columna de relleno de 40 cm se obtuvieron los siguientes datos:

Compuesto	t_R , min	W , min
aire	1,9	—
metilciclohexano	10,0	0,76
metilciclohexeno	10,9	0,82
tolueno	13,4	1,06

Calcular

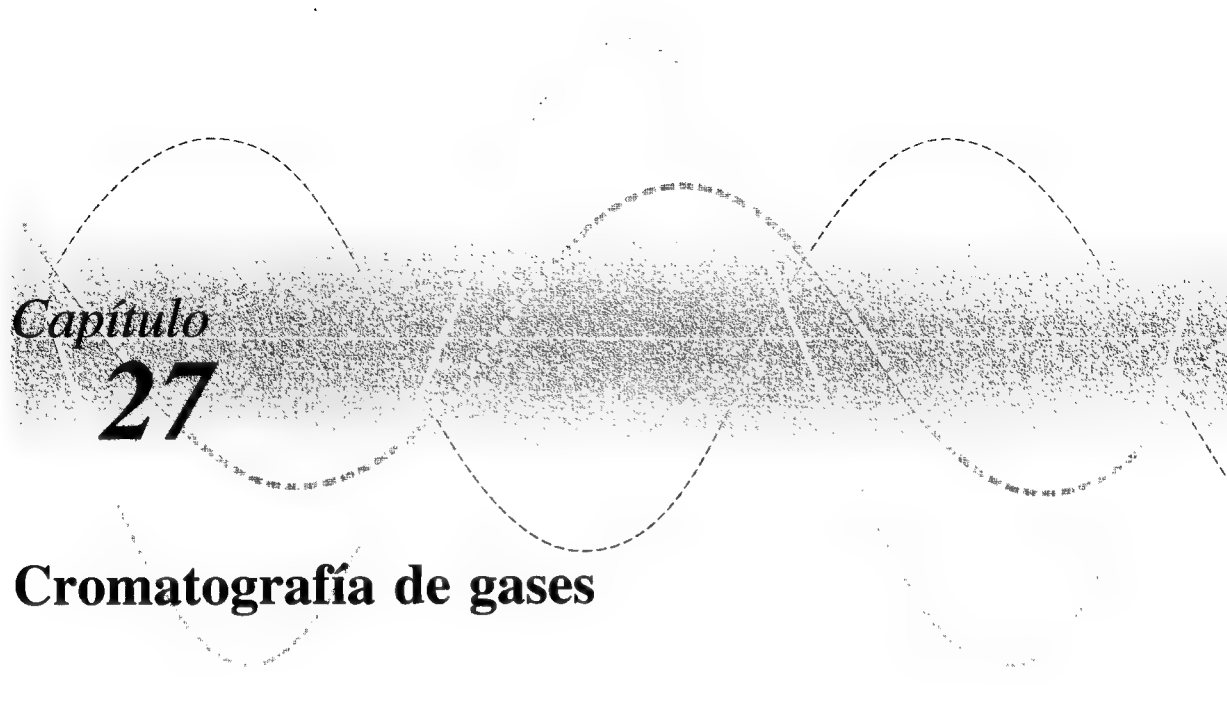
- El número de platos promedio a partir de los datos.
- La desviación estándar para el promedio en (a).
- La altura promedio de plato para la columna.

26-17. En relación al Problema 26-16, calcular la resolución para

- El metilciclohexeno y el metilciclohexano.
- El metilciclohexeno y el tolueno.
- El metilciclohexano y el tolueno.

- 26-18.** Si fuera necesaria una resolución de 1,5 para resolver el metilciclohexano y el metilciclohexeno en el Problema 26-16
- ¿Cuántos platos se necesitarían?
 - ¿Qué longitud debería tener la columna si se utiliza el mismo relleno?
 - ¿Cuál sería el tiempo de retención del metilciclohexeno en la columna cuya longitud se ha calculado en el Problema 26-18b.
- 26-19.** Si V_S y V_M para la columna del Problema 26-16 fueron respectivamente 19,6 y 62,6 mL y el pico de aire no retenido apareció a los 1,9 min, calcular
- El factor de retención para cada uno de los tres compuestos.
 - El coeficiente de distribución para cada uno de los tres compuestos.
 - El factor de selectividad para el metilciclohexano y el metilciclohexeno.
 - Factor de selectividad para el metilciclohexeno y el tolueno.
- 26-20.** Enumerar las variables que conducen (a) al ensanchamiento de banda y (b) a la separación de las bandas.
- 26-21.** ¿Cuál sería el efecto sobre un pico cromatográfico de la introducción de la muestra a una velocidad demasiado lenta?
- 26-22.** A partir de estudios de distribución se sabe que las especies M y N tienen coeficientes de distribución entre el agua y el hexano de 6,01 y 6,20 ($K = [M]_{H_2O}/[M]_{hex}$). Las dos especies se separan por elución con hexano en una columna rellena con gel de sílice que contiene agua adsorbida. La relación V_S/V_M para el relleno resulta ser de 0,422.
- Calcular el factor de retención para cada uno de los solutos.
 - Calcular el factor de selectividad.
 - ¿Cuántos platos se necesitarán para tener una resolución de 1,5?
 - ¿Qué longitud de columna se necesita si la altura de plato para este relleno es $2,2 \times 10^{-3}$ cm?
 - ¿Si se utiliza una velocidad lineal de flujo de 7,10 cm/min, qué tiempo se necesitará para eluir las dos especies?
- 26-23.** Repetir los cálculos del Problema 26-22 suponiendo que $K_M = 5,81$ y $K_N = 6,20$.
- 26-24.** Las áreas relativas de pico obtenidas por cromatografía de gases para una mezcla de acetato de metilo, propionato de metilo y *n*-butirato de metilo fueron 17,6; 44,7 y 31,1, respectivamente. Calcular el porcentaje de cada compuesto si las respuestas relativas de detección fueron respectivamente 0,65; 0,83 y 0,92.
- 26-25.** Las áreas relativas de pico para los cinco picos obtenidos por cromatografía de gases en la separación de cinco esteroides se muestran más abajo, así como las respuestas relativas del detector a los cinco compuestos. Calcular el porcentaje de cada compuesto en la mezcla.

Compuesto	Área relativa de pico	Respuesta relativa del detector
Dehidroepiandrosterona	27,6	0,70
Estradiol	32,4	0,72
Estrona	47,1	0,75
Testosterona	40,6	0,73
Estriol	27,3	0,78



Capítulo 27

Cromatografía de gases

En cromatografía de gases (GC), la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de un gas inerte. A diferencia de la mayoría de los otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna. Existen dos tipos de cromatografía de gases: la **cromatografía gas-sólido** (GSC) y la **cromatografía gas-líquido** (GLC). La cromatografía gas-líquido tiene gran aplicación en todos los campos de la ciencia y su denominación se abrevia normalmente como cromatografía de gases (GC), a pesar de que este hecho deja a un lado la cromatografía gas-sólido como si no se tratase de un verdadero tipo de cromatografía.

En la **cromatografía gas-sólido** se produce la retención de los analitos en una fase estacionaria sólida como consecuencia de la adsorción física. La cromatografía gas-sólido ha tenido una aplicación limitada debido a la retención semipermanente de las moléculas activas o polares y a la obtención de picos de elución con colas muy significativas

(como consecuencia del carácter no lineal del proceso de adsorción), de modo que esta técnica no ha encontrado una gran aplicación excepto para la separación de ciertas especies gaseosas de bajo peso molecular; es por ello que se trata sólo brevemente en el Apartado 27E.

La cromatografía gas-líquido se basa en la distribución del analito entre una fase móvil gaseosa y una fase líquida inmovilizada sobre la superficie de un sólido inerte. El concepto de cromatografía gas-líquido fue enunciado por primera vez, en 1941, por Martin y Synge, quienes fueron también los responsables del desarrollo de la cromatografía de reparto líquido-líquido. Tuvo que pasar, sin embargo, más de una década antes de que la importancia de la cromatografía gas-líquido se demostrara experimentalmente¹. Tres años más tarde, en 1955, apareció en el mercado el primer aparato comercial para cromatografía gas-líquido. Desde entonces, las aplicaciones de esta técnica han crecido de una forma espectacular². En

¹ A. J. Jones y A. J. P. Martin, *Analyst*, **1952**, 77, 915.

² Para monografías sobre GLC, véase J. Willet, *Gas Chromatography*. New York: Wiley, 1987; W. Jennings, *Analytical*

1985, se estimó que unos 200.000 cromatógrafos de gases estaban en uso por todo el mundo³.

27A. PRINCIPIOS DE LA CROMATOGRAFÍA GAS-LÍQUIDO

Los principios generales de la cromatografía, que se han desarrollado en el Capítulo 26, y las relaciones matemáticas resumidas en el Apartado 26E son aplicables a la cromatografía de gases con sólo ligeras modificaciones que son consecuencia de la compresibilidad de las fases móviles gaseosas.

27A-1. Volúmenes de retención

A fin de tener en cuenta los efectos de la presión y de la temperatura en cromatografía de gases, es más aconsejable utilizar los *volúmenes de retención* en vez de los tiempos de retención a los que se hace referencia en el Apartado 26B. La relación entre los dos es

$$V_R = t_R F \quad (27-1)$$

y

$$V_M = t_M F \quad (27-2)$$

donde F es el caudal promedio en el interior de la columna, V y t son, respectivamente, los volúmenes de retención y los tiempos de retención, y los subíndices R y M se refieren a las especies que son retenidas en la columna y a las que no lo son. Sin embargo, el caudal promedio no se puede medir directamente, y de forma experimental sólo se puede determinar el caudal de gas a la salida de la columna. Por lo general, éste se mide con un medidor

de pompas de jabón, el cual se muestra en la Figura 27-2. El caudal promedio F es entonces

$$F = F_m \times \frac{T_C}{T} \times \frac{(P - P_{H_2O})}{P} \quad (27-3)$$

donde T_C es la temperatura de la columna en kelvin, T es la temperatura en el medidor, F_m es el caudal medido, y P es la presión del gas a la salida de la columna. Normalmente P y T son la presión y la temperatura ambientales. En el medidor de pompas de jabón, el gas se satura con agua y, por ello, la presión se ha de corregir teniendo en cuenta la presión de vapor del agua, P_{H_2O} .

Tanto V_R como V_M dependen de la presión promedio en el interior de la columna, cuyo valor es intermedio entre la presión de entrada P_i y la presión de salida P (presión atmosférica). El factor de corrección de caída de presión j se utiliza por el hecho de que la presión dentro de la columna no es una función lineal del cociente P_i/P . Los volúmenes de retención netos V_R^0 y V_M^0 , que corresponden a los volúmenes a la presión promedio de la columna, se obtienen de las ecuaciones

$$V_R^0 = j t_R F \text{ y } V_M^0 = j t_M F \quad (27-4)$$

donde j se puede calcular a partir de la ecuación

$$j = \frac{3[(P_i/P)^2 - 1]}{2[(P_i/P)^3 - 1]} \quad (27-5)$$

El volumen de retención específico V_g se define como

$$\begin{aligned} V_g &= \frac{V_R^0 - V_M^0}{W} \times \frac{273}{T_C} \\ &= \frac{jF(t_R - t_M)}{W} \times \frac{273}{T_C} \end{aligned} \quad (27-6)$$

donde W es la masa de la fase estacionaria, una cantidad determinada en el momento de preparar la columna, y T_C es la temperatura de la columna en kelvin.

27A-2. Relación entre V_g y K

Resulta oportuno relacionar V_g con el coeficiente de distribución K . Para conseguirlo, se sustituye

Gas Chromatography, Orlando, FL: Academic Press, 1987; *Modern Practice of Gas Chromatography* 3.^a ed., R. L. Grob, Ed. New York: Wiley-Interscience, 1995; M. L. Lee, F. Yang y K. Bartle, *Open Tubular Gas Chromatography: Theory and Practice*. New York: Wiley, 1984.

³ R. Schill y R. R. Freeman, en *Modern Practice of Gas Chromatography*, 2.^a ed., R. L. Grob, Ed., pág. 294. New York: Wiley, 1985.

la expresión que relaciona t_R y t_M con k' (Ecuación 26-8) en la Ecuación 27-6, lo que da

$$V_g = \frac{jFt_M k'}{W} \times \frac{273}{T_C}$$

Combinando esta expresión con la Ecuación 27-4 se obtiene

$$V_g = \frac{V_M^0 k'}{W} \times \frac{273}{T_C}$$

La sustitución de k' por la Ecuación 26-5 da (aquí, V_M^0 y V_M son idénticos)

$$V_g = \frac{KV_S}{W} \times \frac{273}{T_C}$$

La densidad ρ_s del líquido en la fase estacionaria viene dada por

$$\rho_s = \frac{W}{V_s}$$

Así,

$$V_g = \frac{K}{\rho_s} \times \frac{273}{T_C} \quad (27-7)$$

Obsérvese que V_g a una temperatura dada depende solamente de la constante de distribución del soluto y de la densidad del líquido que constituye la fase estacionaria, y como tal, debería ser en principio un parámetro útil para la identificación de la especie. En la literatura se halla un gran número de volúmenes de retención específicos; desafortunadamente, esos datos se encuentran muy dispersos y con frecuencia son poco fiables.

27A-3. Efecto del caudal de fase móvil

La Ecuación 26-19 y las relaciones indicadas en la Tabla 26-3 son totalmente aplicables a la cromatografía de gases. Sin embargo, debido a que las velocidades de difusión son mucho mayores en los gases (10^4 veces mayores que en los líquidos), el término de la difusión longitudinal (B/u) es más importante en la cromatografía gas-líquido que en otros procesos cromatográficos. En consecuencia, el mínimo que se observa en las curvas que relacio-

nan la altura de plato H con el caudal es normalmente más ancho cuando se trata de la cromatografía de gases (véanse Figs. 26-7 y 26-10).

27B. INSTRUMENTOS PARA LA CROMATOGRAFÍA GAS-LÍQUIDO

Actualmente, más de 30 fabricantes de instrumentos ofrecen unos 130 modelos distintos de equipos para cromatografía de gases, con un coste que varía desde unos 1.500 hasta 40.000 dólares. En las últimas dos décadas, los instrumentos de cromatografía de gases que han aparecido en el mercado presentan muchos cambios y mejoras. En los años setenta, se hicieron habituales los integradores electrónicos y los equipos de procesamiento de datos basados en un ordenador. Los años ochenta introdujeron la utilización de los ordenadores para el control automático de la mayoría de los parámetros instrumentales, tales como la temperatura de la columna, caudales y la inyección de la muestra; el desarrollo de instrumentos de un muy alto rendimiento a un coste moderado; y tal vez lo más importante, el desarrollo de las columnas abiertas que son capaces de separar una multitud de analitos en un tiempo relativamente corto.

Los componentes básicos de un instrumento para la cromatografía de gases se muestran en la Figura 27-1. A continuación se da una descripción de cada uno de los componentes. Obsérvese que en la figura, el caudal de gas se divide antes de entrar en la columna. Este tipo de disposición se utiliza cuando el detector empleado mide un cambio en las propiedades de la corriente de gas por la presencia de las moléculas de analito. Normalmente no se utilizan divisores de caudal con otros tipos de detectores.

27B-1. Gas portador

Entre los gases portadores, que deben ser químicamente inertes, se encuentran el helio, el nitrógeno y el hidrógeno. Como se indicará posteriormente, la elección de los gases está con frecuencia determinada por el tipo de detector que se utiliza. Con el suministro del gas se encuentran asociados los reguladores de presión, manómetros y medidores de caudal. Además, el sistema de gas portador contiene a menudo un tamiz molecular para eliminar el agua u otras impurezas.

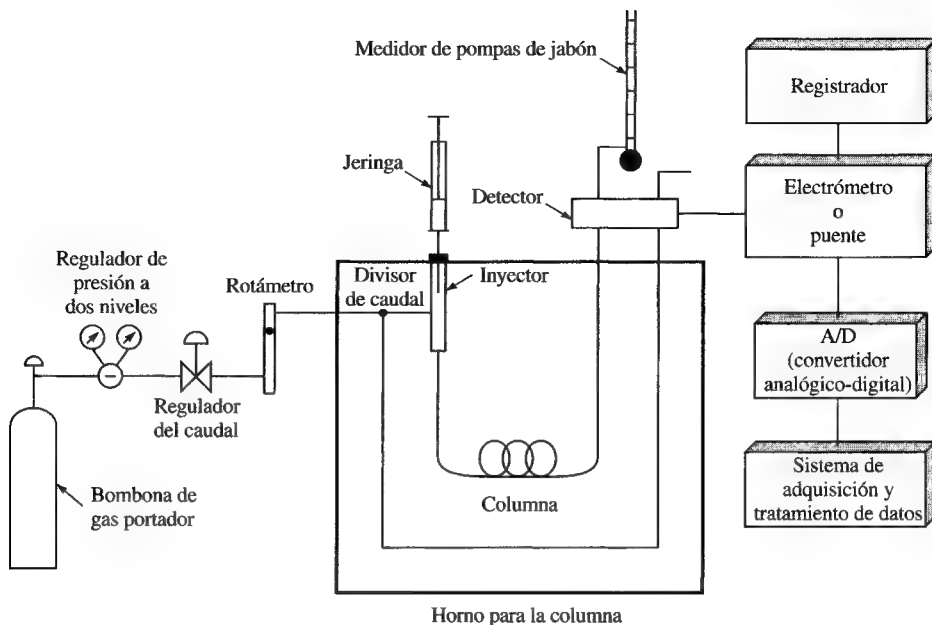


Figura 27-1. Representación esquemática de un cromatógrafo de gases.

Los caudales se controlan normalmente mediante un regulador de presión de dos niveles colocado en el cilindro de gas, y algún tipo de regulador de presión o regulador de flujo instalado en el cromatógrafo. El intervalo de presiones de entrada normalmente oscila entre 10 y 50 psi (por encima de la presión del entorno), lo que conduce a caudales de 25 a 150 mL/min con las columnas rellenas, y de 1 a 25 mL/min en las columnas abiertas (columnas capilares). Generalmente, se supone que los caudales serán constantes si la presión de entrada se mantiene constante. Los caudales pueden determinarse mediante un rotámetro situado en la cabeza de la columna; este dispositivo, sin embargo, no es tan exacto como un simple medidor de bombas de jabón, que tal como se muestra en la Figura 27-1, se coloca al final de la columna. Cuando se aprieta una pera de goma que contiene una disolución acuosa de jabón o detergente, se interpone una película de jabón en el camino del gas, a continuación se mide el tiempo necesario para que esta película se desplace entre dos divisiones de la bureta, lo que permite calcular el caudal volumétrico (véase Fig. 27-2). Muchos cromatógrafos de gases modernos que están comercializados van equipados con medidores electrónicos del caudal, que están controlados por ordenador para mantener el caudal al nivel deseado.

27B-2. Sistema de inyección de muestra

La eficacia de la columna requiere que la muestra sea de un tamaño adecuado y que sea introducida como un «tapón» de vapor; la inyección lenta de muestras demasiado grandes provoca un ensanchamiento de las bandas y una pobre resolución. El método más común de inyección de muestra implica el uso de una microjeringa para inyectar una muestra líquida o gaseosa a través de un diafragma o «septum» de goma de silicona, en una cámara de



Figura 27-2. Medidor de bombas de jabón. (Cortesía de Chrompack Inc., Raritan, NJ.)

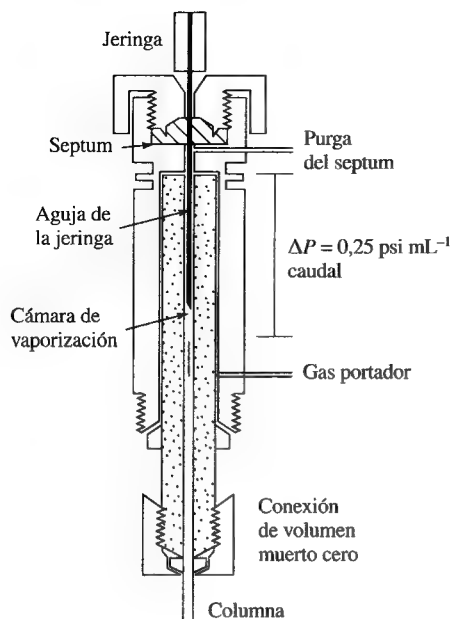


Figura 27-3. Vista de la sección transversal de un inyector de vaporización instantánea.

vaporización instantánea situada en la cabeza de la columna (la cámara de muestra normalmente está unos 50 °C por encima del punto de ebullición del componente menos volátil de la muestra). La Figura 27-3 muestra una representación esquemática de un bloque de inyección típico. Para las columnas analíticas ordinarias, el tamaño de muestra varía desde unas pocas décimas de microlitro a 20 μL . Las columnas capilares exigen muestras mucho menores ($\approx 10^{-3} \mu\text{L}$); en estos casos se emplea un

sistema divisor de la muestra que permite pasar a la cabeza de la columna solamente una pequeña fracción de la muestra, desechándose el resto.

En el trabajo cuantitativo, tanto en el caso de líquidos como en el de gases se introducen tamaños de muestra más reproducibles mediante el uso de una válvula rotatoria como la mostrada en la Figura 27-4. Con estos dispositivos, los errores relativos debidos al tamaño de la muestra pueden reducirse hasta ser de un 0,5 a un 2 por 100. La válvula rotatoria de muestra (Fig. 27-4a) se llena con un exceso de muestra, girando la válvula 45 grados se introduce un volumen reproducible, ACB , en la fase móvil. Las muestras sólidas se introducen como disoluciones o, alternativamente, en viales de paredes delgadas cerrados herméticamente que puedan colocarse junto a la cabeza de columna y ser perforados o aplastados desde el exterior.

27B-3. Configuración de la columna y del horno para la columna

En cromatografía de gases se usan dos tipos generales de columnas, las *rellenas*, y las *abiertas* o *capilares*. Hasta la fecha, la mayor parte de la cromatografía de gases se ha realizado con columnas rellenas. Sin embargo, en la actualidad esta situación está cambiando rápidamente, y parece probable que en un futuro próximo, excepto para ciertas aplicaciones especiales, las columnas de relleno serán sustituidas por las columnas abiertas, más eficaces y rápidas.

Las columnas cromatográficas varían desde menos de 2 hasta 50 m de longitud, o más. Están

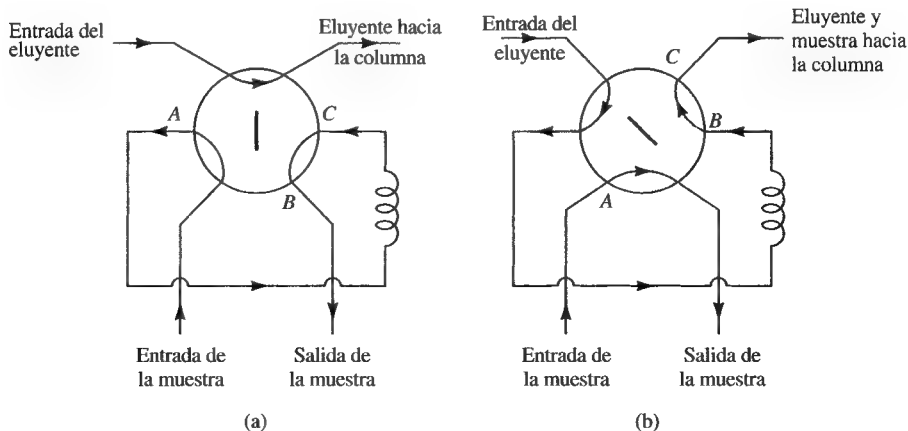


Figura 27-4. Válvula rotatoria de muestra: en la posición (a) se llena el bucle ACB con la muestra y en (b) la muestra se introduce en la columna.

construidas con acero inoxidable, vidrio, sílice fundida o teflón. A fin de poder colocarse en el interior de un horno termostatzado, normalmente se configuran como helicoides con diámetros de 10 a 30 cm. En el Apartado 27C se encuentra una discusión detallada acerca de las columnas, rellenos de columna y fases estacionarias.

La temperatura de la columna es una variable importante que para un trabajo preciso ha de regularse a las décimas de grado, por ello la columna normalmente se introduce dentro de un horno de temperatura controlada. La temperatura óptima de la columna depende del punto de ebullición de la muestra y del grado de separación requerido. En la práctica, con una temperatura igual o ligeramente

superior al punto de ebullición promedio de la muestra, se obtienen tiempos de elución razonables (2 a 30 min). Para muestras cuyos componentes presentan un amplio intervalo de temperaturas de ebullición, a menudo es conveniente emplear una *programación de temperatura*, con lo que se aumenta la temperatura de la columna bien de forma continua o bien por etapas, al mismo tiempo que tiene lugar la separación. En la Figura 27-5c se muestra la mejora en un cromatograma ocasionada por la programación de temperatura.

En general, la resolución óptima se asocia con una temperatura mínima; en contrapartida la reducción de temperatura produce un aumento en el tiempo de elución, y por tanto del tiempo que se necesi-

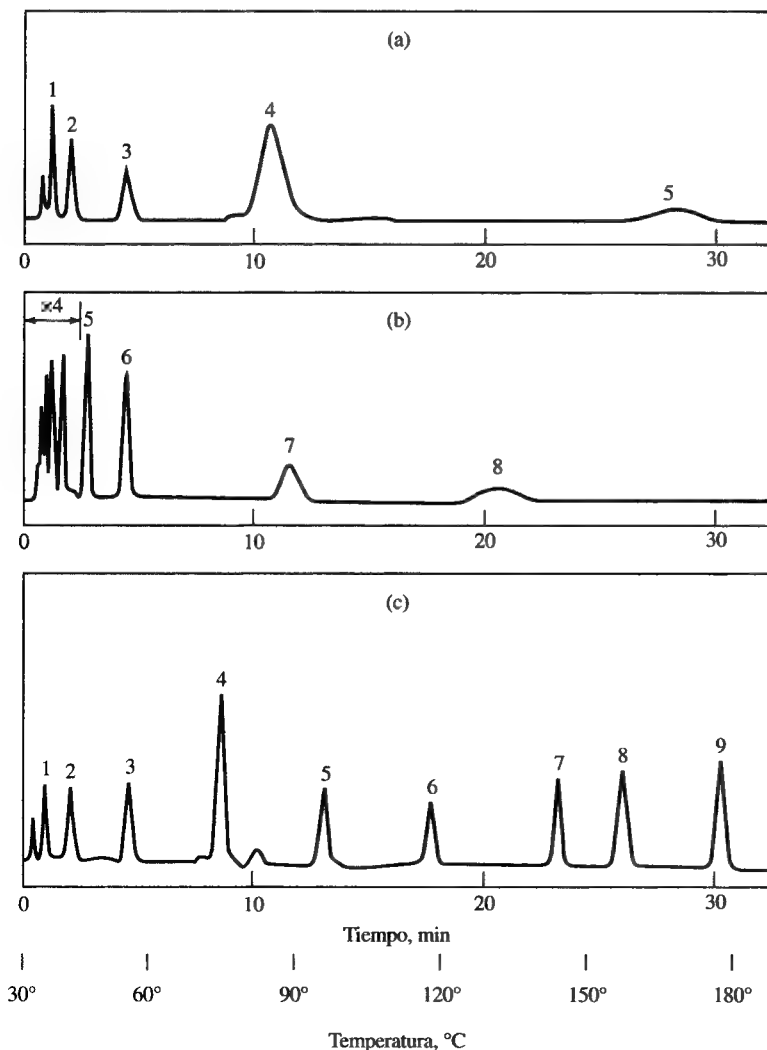


Figura 27-5. Efecto de la temperatura sobre los cromatogramas de gases. (a) isotérmica a 45 °C; (b) isotérmica a 145 °C; (c) programada de 30 °C a 180 °C. (De W. E. Harris y H. W. Habgood, *Programmed Temperature Gas Chromatography*, pág. 10. New York: Wiley, 1966. Reproducción autorizada de John Wiley & Sons, Inc.)

ta para completar un análisis. Las Figuras 27-5a y 27-5b ilustran este principio.

27B-4. Sistemas de detección

Durante el desarrollo de la cromatografía de gases se han investigado y utilizado docenas de detectores. En los apartados que siguen a continuación, se describen los utilizados más frecuentemente. En el Apartado 27D-3, se describen aquellos instrumentos en los que los cromatógrafos de gases se acoplan a espectrómetros de masas y a espectrofotómetros de infrarrojo. En este caso, el dispositivo espectrométrico sirve no sólo para detectar la aparición de los picos de los analitos al final de la columna, sino también para identificarlos.

Características del detector ideal

El detector ideal para cromatografía de gases tiene las siguientes características:

1. Adecuada sensibilidad. Aquello que constituye una adecuada sensibilidad no puede evaluarse de forma cuantitativa. Por ejemplo, las sensibilidades de los detectores que se van a describir difieren en un factor de 10^7 . Aunque todos se utilizan extensamente y son adecuados en ciertos casos, sin embargo, los menos sensibles no resultan convenientes para algunas aplicaciones. En general, las sensibilidades de los detectores actuales se encuentran en el intervalo de 10^{-15} a 10^{-8} g de soluto/s.
2. Buena estabilidad y reproducibilidad.
3. Respuesta lineal para los solutos que se extiende a varios órdenes de magnitud.
4. Intervalo de temperaturas de trabajo comprendido desde la temperatura ambiente hasta al menos 400°C .
5. Tiempo de respuesta corto que sea independiente del caudal.
6. Alta fiabilidad y manejo sencillo. Hasta el punto de que el detector debería estar a prueba de la impericia de operadores inexpertos.
7. Respuesta semejante para todos los solutos o, por el contrario, una respuesta selectiva y altamente predecible para uno o más tipos de solutos.
8. No destructivo de la muestra.

No es necesario decir que no hay un detector que reúna todas estas características, y tampoco parece

probable que tal detector pueda llegar a diseñarse nunca.

Detectores de ionización de llama

El detector de ionización de llama (FID) es el detector más extensamente utilizado, y por lo general, uno de los más aplicables en cromatografía de gases. En un quemador tal como el que se muestra en la Figura 27-6, el efluente de la columna se mezcla con hidrógeno y con aire para luego encenderse eléctricamente. La mayoría de los compuestos orgánicos, cuando se pirolizan a la temperatura de una llama de hidrógeno/aire, producen iones y electrones que pueden conducir la electricidad a través de la llama. Cuando se aplica una diferencia de potencial de unos pocos cientos de voltios entre el extremo del quemador y un electrodo colector situado por encima de la llama, la corriente que resulta ($\approx 10^{-12}$ A) se dirige para su medida hacia un amplificador operacional de alta impedancia.

La ionización en la llama de los compuestos que contienen carbono no es un proceso bien establecido, aunque se observa que el número de iones que se produce es relativamente proporcional al número de átomos de carbono *reducidos* en la lla-

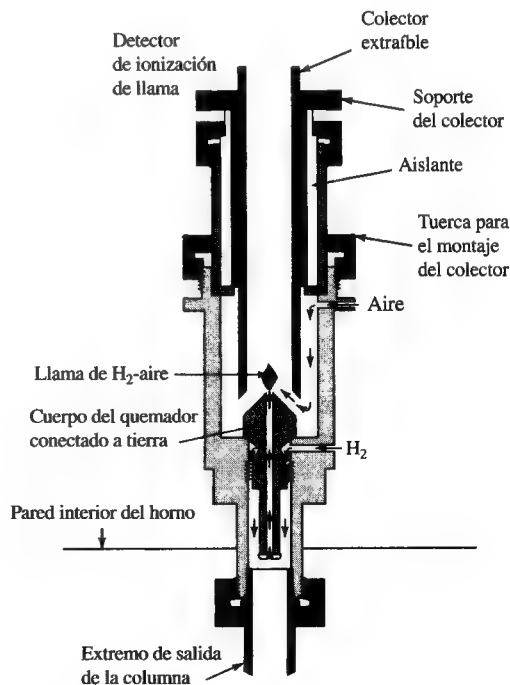


Figura 27-6. Un detector de ionización de llama característico. (Cortesía de Hewlett-Packard Company.)

ma. El detector de ionización de llama responde al número de átomos de carbono que entra en el detector por unidad de tiempo, por ello, es más un detector sensible a la masa, que un sistema sensible a la concentración.

Grupos funcionales, tales como carbonilo, alcohol, halógeno y amina, originan en la llama pocos iones o prácticamente ninguno. Además, el detector es insensible a los gases no combustibles como H_2O , CO_2 , SO_2 , y NO_x . Estas propiedades hacen del detector de ionización de llama uno de los detectores generales más utilizado para el análisis de la mayoría de compuestos orgánicos, incluyendo aquellos que están contaminados con agua y con óxidos de nitrógeno y de azufre. La insensibilidad del detector de ionización de llama hacia el agua le hace particularmente útil para la detección de contaminantes en muestras naturales de agua.

El detector de ionización de llama posee una elevada sensibilidad ($\sim 10^{-13}$ g/s), un gran intervalo de respuesta lineal ($\sim 10^7$), y un bajo ruido. Por lo general, es resistente y fácil de utilizar. Una desventaja del detector de ionización de llama es que se trata de un detector destructivo de la muestra.

Detectores de conductividad térmica (TCD)

Uno de los primeros detectores que se utilizaron en cromatografía de gases, y uno de los que todavía tiene una gran aplicación, se basa en los cambios en la conductividad térmica de la corriente de gas ocasionados por la presencia de las moléculas de analito. Este dispositivo se denomina, a veces, *catarómetro*. El sensor de un catarómetro consiste en un elemento calentado eléctricamente cuya temperatura, a una potencia eléctrica constante, depende de la conductividad térmica del gas circundante. El elemento calentado puede ser un hilo fino de platino, oro o wolframio, o también, un termistor semiconductor. La resistencia del hilo o del termistor da una medida de la conductividad térmica del gas; a diferencia del detector de hilo, el termistor tiene un coeficiente de temperatura negativo. En la Figura 27-7a se muestra una sección transversal de uno de los elementos sensibles a la temperatura de un detector de conductividad térmica.

La Figura 27-7b muestra la configuración de los componentes del detector en una unidad característica de detección. Se emplean dos pares de elementos, uno de los pares se coloca en el flujo del efuyente de la columna, y el otro en la corriente de gas previa a la cámara de inyección de la muestra.

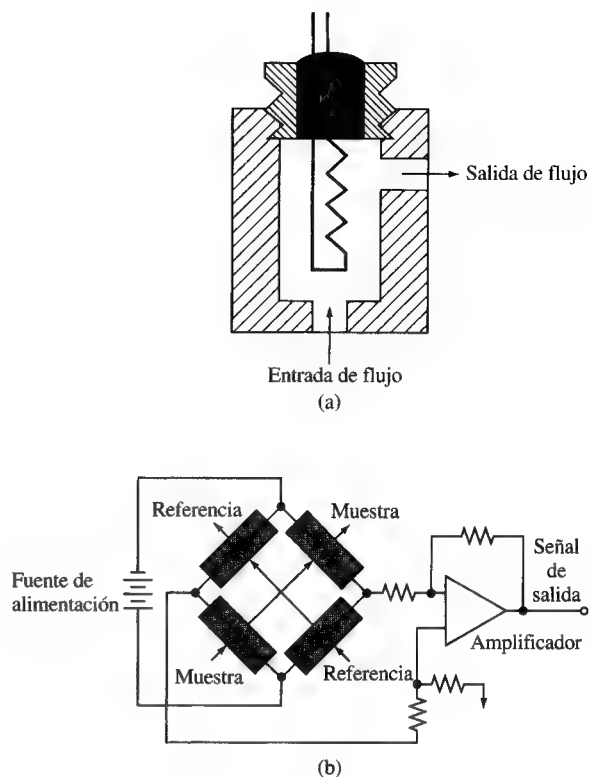


Figura 27-7. Esquema de (a) celda de un detector de conductividad térmica y (b) configuración de las dos celdas de muestra y de referencia de un detector. (Con autorización de J. V. Hinshaw, LC-GC, 1990, 8, 298.)

(Esos elementos se rotulan como «muestra» y «referencia» en la Fig. 27-7b.) Alternativamente, la corriente de gas se puede dividir como se indica en la Figura 27-1. En cualquiera de los casos, se compensa el efecto de la conductividad térmica del gas portador, y se minimizan los efectos de la variación de caudal, presión y potencia eléctrica. Las resistencias de los pares de detectores gemelos se comparan entre sí, incorporándolos en un circuito sencillo de puente de Wheatstone semejante al que se muestra en la Figura 27-7b.

En 1979 se introdujo un detector de conductividad térmica de filamento único modulado; este dispositivo presenta una mayor sensibilidad, está exento de deriva en la línea base y posee un tiempo de equilibración mínimo. En este caso el gas de referencia y el analítico se hacen pasar alternativamente sobre un minúsculo filamento contenido en una celda cerámica de detección, que tiene un volumen solamente de $5 \mu\text{L}$. El dispositivo de conmutación del gas opera con una frecuencia de 10 Hz. Se consigue así, a la salida del filamento, una señal

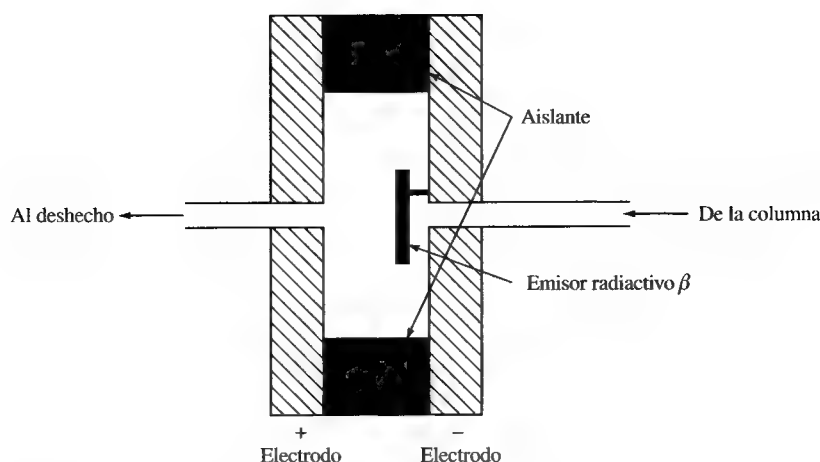


Figura 27-8. Diagrama esquemático de un detector de captura de electrones.

eléctrica de 10 Hz cuya amplitud es proporcional a la diferencia en la conductividad térmica de los gases de referencia y analítico. Debido a que el circuito amplificador sólo responde a una señal de 10 Hz, se elimina en gran medida el ruido térmico del sistema.

Las conductividades térmicas del helio y del hidrógeno son aproximadamente de seis a diez veces mayores que las de la mayoría de los compuestos orgánicos, de modo que, incluso en presencia de pequeñas cantidades de materia orgánica, tiene lugar una disminución relativamente grande de la conductividad térmica del efluente de la columna y, en consecuencia, el detector experimenta un marcado aumento en la temperatura. Las conductividades de los otros gases portadores son más parecidas a las de los constituyentes orgánicos y por esta razón con un detector de conductividad térmica debe usarse hidrógeno o helio como gas portador con la finalidad de obtener una buena sensibilidad.

Las ventajas del detector de conductividad térmica son su sencillez, su amplio intervalo dinámico lineal ($\sim 10^5$), su respuesta universal tanto a especies orgánicas como a inorgánicas, y su carácter no destructivo, lo que permite recoger los solutos tras la detección. Una limitación del catarómetro es su sensibilidad relativamente baja ($\sim 10^{-8}$ g de soluto/mL de gas portador). Otros detectores son de 10^4 a 10^7 veces más sensibles. Debería subrayarse que la baja sensibilidad de los detectores de conductividad térmica, hace imposible con frecuencia su utilización con columnas capilares, debido al pequeño tamaño de muestra con el que estas columnas operan.

Detectores de quimioluminiscencia del azufre (SCD)

Recientemente se ha incorporado a la gama disponible de detectores para cromatografía de gases el detector de quimioluminiscencia del azufre, que se basa en la reacción entre ciertos compuestos azufrados y el ozono. La intensidad de fluorescencia resultante es proporcional a la concentración de azufre. Este detector ha demostrado ser especialmente útil en la detección de contaminantes como los mercaptanos. En el detector de quimioluminiscencia del azufre el eluyente se mezcla con hidrógeno y aire y se produce la combustión como en el detector de ionización de llama. Los gases así obtenidos se mezclan con el ozono, y se mide la intensidad de emisión resultante. El detector de quimioluminiscencia del azufre también se ha adaptado para la cromatografía de fluidos supercríticos.

Detectores de captura de electrones (ECD)⁴

El detector de captura de electrones ha llegado a ser uno de los detectores más ampliamente utilizados para el análisis de muestras medioambientales, debido a su selectividad para detectar compuestos que contienen halógenos, tal es el caso de los pesticidas y de los bifenilos policlorados. Este tipo de detector opera casi del mismo modo que un contador proporcional para la medida de rayos X (Apar-

⁴ Para una descripción reciente de los detectores de captura de electrones comercialmente disponibles, véase D. Noble, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 442A.

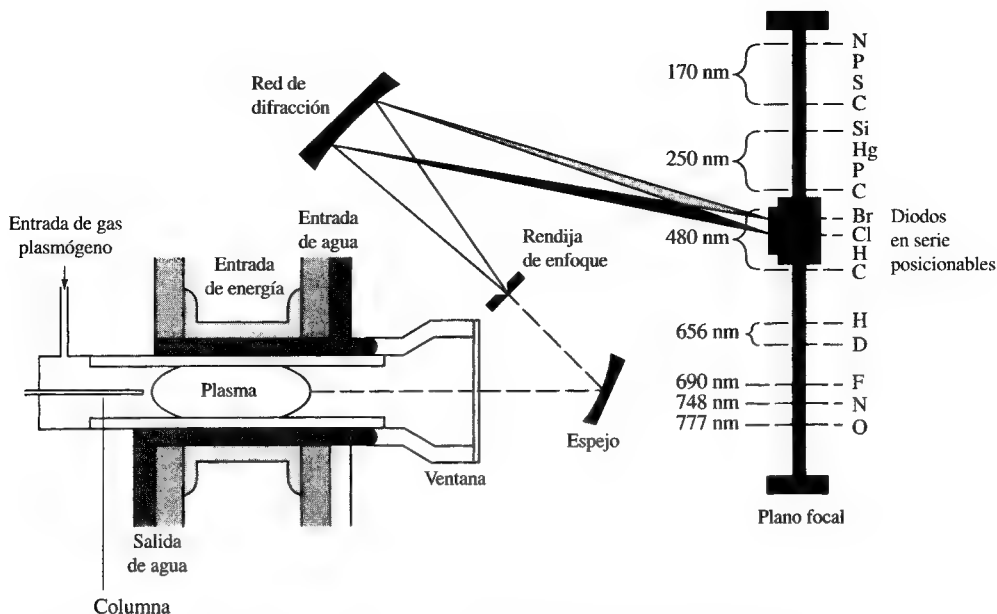


Figura 27-9. Detector de emisión atómica. (Cortesía de Hewlett-Packard Company.)

tado 12B-4). Como se muestra en la Figura 27-8, el efluente de la columna pasa sobre un emisor β , normalmente níquel-63. Un electrón del emisor provoca la ionización del gas portador (con frecuencia, nitrógeno) y la producción de una ráfaga de electrones.

De este proceso de ionización, en ausencia de especies orgánicas, resulta una corriente constante entre un par de electrodos. Sin embargo, la corriente disminuye significativamente en presencia de moléculas orgánicas que tienden a capturar electrones. La respuesta no es lineal, a no ser que el potencial a través del detector se aplique en forma de impulsos.

El detector de captura de electrones es de respuesta selectiva, siendo muy sensible a las moléculas que contienen grupos funcionales electronegativos tales como halógenos, peróxidos, quinonas, y grupos nitro; en cambio, no es sensible a grupos funcionales como aminas, alcoholes e hidrocarburos. Una aplicación importante del detector de captura de electrones es la detección y determinación de insecticidas clorados.

Los detectores de captura de electrones son altamente sensibles y tienen la ventaja de no alterar la muestra de manera significativa (a diferencia del detector de llama). Por otra parte, su intervalo de respuesta lineal se limita normalmente a unos dos órdenes de magnitud.

Detectores de emisión atómica (AED)

El detector de emisión atómica está ya disponible en el comercio⁵. En este dispositivo (véase Fig. 27-9), el efluente se introduce en un plasma de helio obtenido con microondas, que se acopla a un espectrómetro óptico de emisión de diodos en serie. El plasma es suficientemente energético como para atomizar todos los elementos de una muestra, excitarlos, y así obtener sus espectros de emisión atómica característicos. Estos espectros son recogidos en un espectrómetro que utiliza una serie de diodos configurados en un plano móvil, que es capaz de detectar la radiación emitida desde 170 a 780 nm. Como se indica a la derecha de la figura, los diodos en serie son capaces de controlar simultáneamente de dos a cuatro elementos en una posición dada. Hasta el momento, el programa de tratamiento de datos suministrado con el detector permite medir la concentración de 15 elementos. Presumiblemente, un futuro software permitirá también la detección de otros elementos.

La Figura 27-10 ilustra las posibilidades de este tipo de detector. En este caso la muestra es una gasolina que contiene una pequeña concentración de metil-*terc*-butiléter (MTBE), un agente antidetonante, además de varios alcoholes alifáticos a bajas

⁵ Véase B. D. Quimby y J. J. Sullivan, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 1027, 1034.

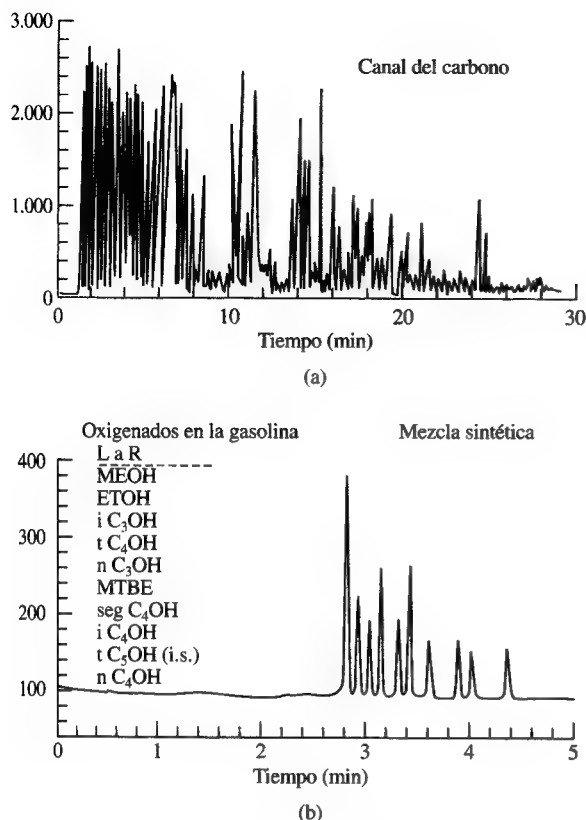


Figura 27-10. Ejemplo de cromatogramas para una muestra de gasolina que contiene una pequeña cantidad de MTBE y varios alcoholes alifáticos. (a) Monitorización de la línea para el carbono; (b) monitorización de la línea para oxígeno. (Cortesia de Hewlett-Packard Company.)

concentraciones. El espectro superior, se obtuvo monitorizando la línea de emisión del carbono a 198 nm, y está constituido por una miríada de picos que sería imposible resolver e identificar. Por el contrario, cuando se utilizó la línea del oxígeno a 777 nm para obtener el cromatograma (Fig. 27-10b), los picos de varios alcoholes y del MTBE se evidenciaron claramente y se identificaron con facilidad.

Detectores termoiónicos (TID)

El detector termoiónico (TID) es un detector selectivo de los compuestos orgánicos que contienen fósforo y nitrógeno. Su respuesta a un átomo de fósforo es aproximadamente 10 veces mayor que a un átomo de nitrógeno, y de 10^4 a 10^6 veces superior que a un átomo de carbono. En comparación con el detector de ionización de llama, el detector termoiónico es unas 500 veces más sensible para los compuestos

que contienen fósforo y unas 50 veces más sensible a las especies nitrogenadas. Estas propiedades hacen de la detección termoiónica un sistema particularmente útil para la detección y determinación de muchos pesticidas que contienen fósforo.

Un detector termoiónico tiene una configuración similar al detector de llama mostrado en la Figura 27-6. El efluente de la columna se mezcla con hidrógeno, pasa a través de la llama, y se quema. El gas caliente fluye alrededor de una bola de silicato de rubidio calentada eléctricamente, la cual se mantiene a unos 180 V con respecto al colector. La bola caliente forma un plasma que alcanza una temperatura de 600 a 800 °C. Lo que ocurre exactamente en el plasma, que hace que se produzcan insólitamente una gran cantidad de iones a partir de las moléculas que contienen fósforo o, nitrógeno, realmente no está bien establecido, pero el resultado es una gran corriente de iones, la cual se utiliza para la determinación de compuestos que contienen esos dos elementos.

Otros tipos de detectores

El detector fotométrico de llama (FPD) se ha utilizado extensamente para el análisis de contaminantes del aire y del agua como los pesticidas y los hidrocarburos. Se trata de un detector selectivo que sobre todo es sensible a los compuestos que contienen azufre y fósforo. En este detector, el eluyente se hace pasar a través de una llama hidrógeno aire a baja temperatura, la cual convierte parte del fósforo a una especie HPO que emite bandas de radiación centradas alrededor de 510 y 526 nm. El azufre de la muestra se convierte simultáneamente en S₂, el cual emite una banda centrada en 394 nm. Sin embargo, el detector de luminiscencia del azufre, anteriormente mencionado, da un límite de detección más bajo y un intervalo de trabajo lineal más amplio que da el detector fotométrico de llama. Para aislar estas bandas se emplean filtros adecuados, y sus intensidades se registran fotométricamente. Con la fotometría de llama se han detectado otros elementos entre los que se incluyen los halógenos, nitrógeno y diversos metales, como estaño, cromo, selenio y germanio. Debería señalarse que el detector de luminiscencia del azufre, como ya se ha dicho, es más sensible y da un intervalo de linealidad para el azufre mayor que lo hace el detector fotométrico de llama.

En el detector de fotoionización, el efluente de la columna se irradia con un haz intenso de radia-

ción ultravioleta de energía variable entre 8,3 y 11,7 eV ($\lambda = 149$ a 106 nm), que provoca la ionización de las moléculas. Al aplicar un potencial a través de una celda que contiene los iones producidos, se origina una corriente de iones, la cual es ampliificada y registrada.

Los otros dos detectores que han crecido en importancia en cromatografía de gases son el espectrómetro de masas y el espectrómetro infrarrojo de transformada de Fourier. La utilidad de estos instrumentos se discute con cierto detalle en los últimos apartados de este capítulo.

27C. COLUMNAS Y FASES ESTACIONARIAS PARA CROMATOGRAFÍA DE GASES

Históricamente, los primeros estudios en cromatografía gas-líquido a principios de los años cincuenta se llevaron a cabo en columnas rellenas, en las que la fase estacionaria era una película delgada de líquido adsorbida en la superficie de un soporte sólido inerte y finamente dividido. Sin embargo, de los estudios teóricos realizados en este período inicial, se puso de manifiesto que las columnas no rellenas con diámetros internos de unas pocas décimas de milímetro deberían proporcionar separaciones mucho mejores que las columnas rellenas, tanto en rapidez como en eficacia de columna. En estas *columnas capilares*, la fase estacionaria era una película uniforme de líquido de unas pocas décimas de micrómetro de espesor que recubría uniformemente el interior del tubo capilar. Este tipo de *columnas abiertas* se construyeron a finales de los años cincuenta, y las características de funcionamiento predichas se confirmaron experimentalmente en distintos laboratorios, describiéndose la utilización de columnas abiertas con 300.000 platos o más⁶. A pesar de las características de funcionamiento tan espectaculares, el uso de las columnas capilares no se generalizó hasta más de dos décadas después de su aparición. Las razones de esta demora fueron

diversas, entre ellas su capacidad, limitada a muestras pequeñas, la fragilidad de las columnas, algunos problemas mecánicos relacionados con la introducción de muestra y la conexión de la columna al detector, dificultades en la reproducibilidad del recubrimiento de la columna, columnas mal preparadas y de corta duración, tendencia de las columnas a obstruirse, y las patentes, que limitaron el desarrollo comercial a un único fabricante (la patente original expiró en 1977). A finales de los años setenta esos problemas en parte habían dejado de ser serios, y varias compañías suministradoras de instrumentación comenzaron a ofrecer columnas abiertas a un precio razonable. Como consecuencia de ello, en los últimos años ha tenido lugar un considerable aumento de las aplicaciones de estas columnas.

27C-1. Columnas abiertas⁷

Las columnas abiertas o columnas capilares, son de dos tipos básicos, denominados *columna abierta de pared recubierta* (WCOT) y *columna abierta recubierta con soporte* (SCOT). Las columnas abiertas de pared recubierta son simplemente capilares con la pared interna recubierta de una fina capa de fase estacionaria. En las columnas abiertas con soporte recubierto, la superficie interna del capilar está revestida de una capa delgada ($\sim 30 \mu\text{m}$) de un material soporte, tal como tierra de diátomeas. Este tipo de columnas contiene varias veces la fase estacionaria que tiene una columna de pared recubierta y, por tanto, tienen una mayor capacidad de carga. Generalmente, la eficacia de una columna SCOT es menor que la de una columna WCOT, pero es sensiblemente mayor que la de una columna rellena.

Al principio, las columnas WCOT se construían de acero inoxidable, aluminio, cobre o plástico, posteriormente se utilizó el vidrio. Con frecuencia las columnas de vidrio se trataban con ácido clorhídrico gaseoso, disoluciones de ácido clorhídrico concentrado o fluoruro ácido de potasio para transformarlas en una superficie rugosa, donde la fase estacionaria se unía más fuertemente. Las nuevas columnas WCOT, que se introdujeron en 1979, son *columnas abiertas de sílice fundida*

⁶ En 1987, Chrompack International Corporation de Holanda, estableció un récord del mundo en longitud y número de platos teóricos de una columna abierta, que se inscribió en el *Libro Guinness de los Récords*. La columna era de sílice fundida construida en una sola pieza y con un diámetro interno de 0,32 mm y una longitud de 2.100 m o 1,3 millas. La columna se recubrió con una película de 0,1 μm de polidimetilsiloxano. Una sección de 1.300 m de esta columna contenía sobre los 2 millones de platos.

⁷ Véase M. Lee, F. Yang y K. Bartle, *Open Tubular Column Gas Chromatography: Theory and Practice*. New York, Wiley, 1984, para una monografía de cromatografía de gases con columnas abiertas.

(columnas FSOT). Los capilares de sílice fundida se fabrican a partir de sílice especialmente purificada con un contenido mínimo de óxidos metálicos. Estos capilares tienen las paredes mucho más delgadas que sus equivalentes de vidrio. La resistencia de los tubos se refuerza con un recubrimiento externo protector de poliimida, el cual se aplica en el momento de la fabricación del capilar. Las columnas que resultan son bastante flexibles y pueden doblarse en forma helicoidal con un diámetro de algunos centímetros. Las columnas abiertas de sílice están disponibles en el comercio, y ofrecen importantes ventajas tales como resistencia física, una reactividad mucho menor frente a los componentes de la muestra y flexibilidad. En la mayoría de las aplicaciones, han sustituido a las antiguas columnas de vidrio WCOT.

Las columnas abiertas de sílice más frecuentemente utilizadas tienen diámetros internos de 320 y 260 μm . También se venden columnas de alta resolución, con diámetros de 200 y 150 μm . La utilización de estas columnas es más problemática y sus requerimientos son mayores con respecto a los sistemas de detección y de inyección. Por ejemplo, se ha de utilizar un divisor de muestra para reducir el tamaño de la muestra inyectada en la columna, y se requiere un sistema de detección más sensible con un tiempo de respuesta rápido. Recientemente, han aparecido en el mercado capilares de 530 μm , a veces llamados columnas *megacapilares*, que ad-

miten muestras de tamaño similar a los empleados en las columnas rellenas. Las características, en términos de eficacia, de las columnas megacapilares no son tan buenas como las de las columnas de menor diámetro, pero son significativamente mejores que en las columnas de relleno.

En la Tabla 27-1 se comparan las características de funcionamiento de las columnas capilares de sílice fundida con las de otros tipos de columnas como las de pared recubierta, y también con las de soporte recubierto y las rellenas.

27C-2. Columnas rellenas

Las actuales columnas rellenas se fabrican con tubo de vidrio, metal (acero inoxidable, cobre, aluminio), o de teflón, con una longitud característica de 2 a 3 m y un diámetro interno de 2 a 4 mm. Estos tubos se rellenan densamente con un material de relleno, o soporte sólido, finamente dividido y homogéneo, que se recubre con una delgada capa (0,05 a 1 μm) de fase estacionaria líquida. Con objeto de poder introducir las en un horno termostático, los tubos se configuran en forma helicoidal con un diámetro aproximado de unos 15 cm.

Materiales de soporte sólidos

El soporte sólido en una columna rellena sirve para retener y ubicar la fase estacionaria líquida, de tal

TABLA 27-1. Propiedades y características de las columnas para cromatografía de gases

	Tipo de columna*			
	FSOT	WCOT	SCOT	Rellena
Longitud, m	10-100	10-100	10-100	1-6
Diámetro interno, mm	0,1-0,53	0,25-0,75	0,5	2-4
Eficacia, platos/m	2.000-4.000	1.000-4.000	600-1.200	500-1.000
Platos totales	$(20-400) \times 10^3$	$(10-400) \times 10^3$	$(6-120) \times 10^3$	$(1-10) \times 10^3$
Tamaño de la muestra, ng	10-75	10-1.000	10-1.000	10-10 ⁶
Presión relativa de retroceso	Baja	Baja	Baja	Alta
Velocidad relativa	Rápida	Rápida	Rápida	Lenta
Inercia química	Mejor	→ Pobre		
Estabilidad química	Sí	No	No	No

* FSOT: Columnas abiertas de sílice fundida.

WCOT: Columnas abiertas de pared recubierta.

SCOT: Columnas abiertas recubiertas con soporte.

forma que exista la mayor superficie de contacto posible con la fase móvil. El soporte ideal consiste en partículas esféricas, pequeñas y uniformes con una buena resistencia mecánica y una superficie específica de al menos $1 \text{ m}^2/\text{g}$. Además, el material debería ser inerte a elevadas temperaturas, y poder humectarse homogéneamente con la fase líquida. Todavía no se dispone de ninguna sustancia que reúna perfectamente todas esas características.

En la actualidad, el material de soporte utilizado con más frecuencia se prepara a partir de tierras de diatomeas de procedencia natural, que están constituidas por esqueletos de miles de especies de plantas unicelulares que habitaban antiguos mares y lagos (véase Fig. 21-17a). Estas plantas tomaban sus nutrientes y eliminaban sus residuos por difusión molecular a través de sus poros. Como consecuencia, sus restos resultan muy adecuados como materiales de soporte, debido a que la cromatografía de gases también se fundamenta en este tipo de difusión molecular.

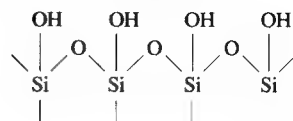
Tamaño de partícula de los soportes

La eficacia de la columna en cromatografía de gases, como se indica en la Figura 26-10 (página 744), la eficacia de una columna de cromatografía de gases aumenta rápidamente cuando disminuye el diámetro de partícula del relleno. Sin embargo, la diferencia de presión que se requiere para mantener un determinado caudal de gas portador, varía inversamente con el cuadrado del diámetro de la partícula; este hecho ha condicionado el límite inferior del tamaño de las partículas que se utilizan en cromatografía de gases, dado que no es conveniente trabajar con diferencias de presión superiores a los 50 psi. Como resultado, las partículas del soporte son, por lo general, de 60 a 80 mesh (260 a $170 \mu\text{m}$) o de 80 a 100 mesh (170 a $149 \mu\text{m}$).

27C-3. Adsorción sobre los rellenos de la columna o las paredes del capilar

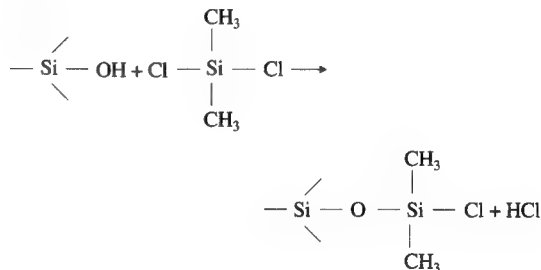
Uno de los problemas que ha afectado a la cromatografía de gases desde sus comienzos, ha sido la adsorción de los analitos polares o polarizables tales como alcoholes o hidrocarburos aromáticos sobre las superficies de silicato de los materiales soporte de las columnas o las paredes del capilar. La adsorción da como resultado picos distorsionados,

los cuales se ensanchan y a menudo presentan una cola. Se ha demostrado que la adsorción se produce como consecuencia de los grupos silanol que se forman en la superficie de los silicatos debido a la humedad. Así, una superficie de silicato totalmente hidrolizada tiene la estructura

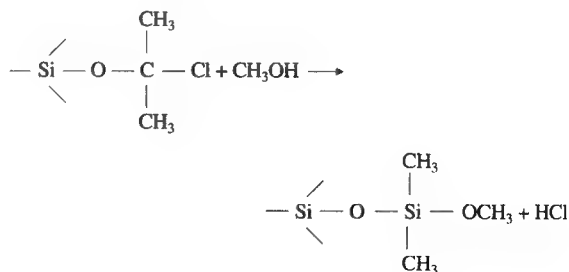


Los grupos SiOH presentes en la superficie del soporte tienen una gran afinidad por las moléculas orgánicas polares, y tienden a retenerlas por adsorción.

Los materiales soporte pueden desactivarse por sililación con dimetilclorosilano (DMCS). La reacción es



Mediante un lavado con metanol, el segundo cloruro se sustituye por un grupo metoxilo, esto es



Las superficies sililadas de las columnas rellenas todavía pueden mostrar una adsorción residual, que al parecer se produce debido a las impurezas de óxidos metálicos presentes en la tierra de diatomeas. Un lavado ácido previo a la sililación elimina estas impurezas. La sílice fundida que se utiliza para la fabricación de columnas abiertas está en gran parte libre de este tipo de impurezas; en con-

secuencia, con las columnas de sílice fundida se tienen menos problemas de adsorción.

27C-4. Fase estacionaria

Las propiedades deseables para una fase líquida inmovilizada en una columna cromatográfica gas-líquido comprenden: (1) *baja volatilidad* (idealmente, el punto de ebullición del líquido debe ser al menos 100 °C mayor que la temperatura de trabajo máxima de la columna); (2) *estabilidad térmica*; (3) *químicamente inerte*; (4) *características de disolvente* tales que los valores de k' y de α (Apartados 26B-4 y 26B-5) de los solutos a resolver estén dentro de un intervalo conveniente.

Durante el desarrollo de la cromatografía gas-líquido se han propuesto un número incontable de disolventes como fases estacionarias. Por ahora, sólo un puñado, tal vez una docena o menos son suficientes para la mayoría de las aplicaciones. La elección adecuada entre esos disolventes es una etapa crítica para el éxito de la separación; de hecho existen unas directrices cualitativas para realizar la elección, pero al final, la mejor fase estacionaria solamente se puede determinar en el laboratorio.

El tiempo de retención de un soluto en una columna depende de su constante de distribución (Ecuación 26-1), que a su vez está relacionado con la naturaleza química de la fase estacionaria; es por ello que, para ser útil en cromatografía gas-líquido, el líquido inmovilizado debería originar diferentes coeficientes de distribución para los distintos solutos. Además, estos coeficientes no deben ser ni extremadamente grandes ni extremadamente pequeñas, dado que las primeras producen tiempos de retención prohibitivamente largos y las últimas dan como resultado tiempos de retención tan cortos que las separaciones son incompletas.

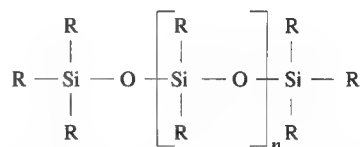
Para que una especie tenga un tiempo de residencia razonable en la columna, debe presentar cierto grado de compatibilidad (solubilidad) con la fase estacionaria. Aquí, se aplica el principio de «lo semejante disuelve a lo semejante», donde «semejante» se refiere a las polaridades del soluto y del líquido inmovilizado. La polaridad es el efecto del campo eléctrico en la inmediata vecindad de una molécula, y se mide por el momento dipolar de la especie. Las fases estacionarias polares contienen grupos funcionales tales como $-\text{CN}$, $-\text{CO}$ y $-\text{OH}$. Las fases estacionarias del tipo hidrocarbonado y dialquilsiloxanos son no polares, mientras

que las fases poliéster son altamente polares. Entre los solutos polares se incluyen los alcoholes, los ácidos y las aminas; especies de polaridad intermedia incluyen éteres, cetonas, y aldehídos. Los hidrocarburos saturados son no polares. Generalmente, la polaridad de la fase estacionaria debe ser parecida a la de los componentes de la muestra. Cuando la igualdad es buena, el orden de elución viene determinado por el punto de ebullición de los compuestos a eluir.

Algunas fases estacionarias de uso extendido

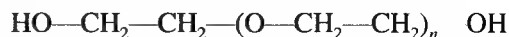
La Tabla 27-2 relaciona en orden de polaridad creciente las fases estacionarias más frecuentemente utilizadas en columnas de cromatografía de gases, tanto de columnas rellenas como abiertas. Probablemente, estos seis líquidos pueden proporcionar separaciones satisfactorias para el 90 por 100 o más de las muestras con que se puede encontrar el científico.

Cinco de los líquidos listados en la Tabla 27-2 son polidimetilsiloxanos que tienen la estructura general



En el primero de ellos, el polidimetilsiloxano, los grupos $-\text{R}$ son todos $-\text{CH}_3$ originando un líquido que es relativamente no polar. En los otros polisiloxanos indicados en la tabla, se sustituye una fracción de los grupos metilo por grupos fenilo ($-\text{C}_6\text{H}_5$), cianopropilo ($-\text{C}_3\text{H}_6\text{CN}$) y trifluoropropilo ($-\text{C}_3\text{H}_6\text{CF}_3$). El porcentaje en cada uno de los casos da el grado de sustitución de los grupos metilo del esqueleto de polisiloxano por un determinado grupo funcional. Así por ejemplo, el polidimetilsiloxano 5 por 100 fenilo tiene anillos de fenilo enlazados a un 5 por 100 de los numerosos átomos de silicio que constituyen el polímero. Estas sustituciones incrementan la polaridad de los líquidos en grado variable.

La quinta entrada en la Tabla 27-2 corresponde al polietilenglicol, que tiene la estructura:



que tiene una gran utilidad para la separación de especies polares. La Figura 27-11 muestra algunas

TABLA 27-2. Algunas fases estacionarias comunes en cromatografía gas-líquido

Fase estacionaria	Nombre comercial común	Temperatura máxima, °C	Aplicaciones comunes
Polidimetilsiloxano	OV-1, SE-30	350	Fase estacionaria no polar de uso general; hidrocarburos, aromáticos polinucleares, fármacos, esteroides, PCB
Poli(fenilmetildimetil) siloxano (10 por 100 fenil)	OV-3, SE-52	350	Ésteres metílicos de ácidos grasos; alcaloides; fármacos; compuestos halogenados
Poli(fenilmetil)siloxano (50 por 100 fenil)	OV-17	250	Fármacos, esteroides, pesticidas, glicoles
Poli(trifluoropropildimetil) siloxano	OV-210	200	Aromáticos clorados, nitroaromáticos, bencenos alquilsustituídos
Polietilenglicol	Carbowax 20M	250	Ácidos libres, alcoholes, éteres, aceites esenciales; glicoles
Poli(dicianoalildimetil) siloxano	OV-275	240	Ácidos grasos poliinsaturados, ácidos de la colofonia, ácidos libres, alcoholes

de las aplicaciones de las fases estacionarias relacionadas en la Tabla 27-2 para columnas abiertas.

Fases estacionarias enlazadas y con enlaces entrecruzados

Las columnas comerciales están disponibles con fases estacionarias con enlaces entrecruzados y/o enlazadas. El objetivo del enlace y del entrecruzamiento es la preparación de una fase estacionaria de larga duración, que se pueda limpiar con un disolvente cuando la película se haya contaminada. Con el uso, las columnas que no han sido tratadas pierden lentamente su fase estacionaria debido al «sangrado», en el que una pequeña cantidad de líquido inmovilizado es arrastrada fuera de la columna durante el proceso de elución. El sangrado se acentúa cuando una columna debe limpiarse con un disolvente para eliminar los contaminantes. La unión química y el entrecruzamiento inhiben el sangrado.

El enlace implica la unión, mediante una reacción química, de una capa monomolecular de la fase estacionaria a la superficie de sílice de la columna. En las columnas comercializadas, la naturaleza de las reacciones que se utilizan normalmente es objeto de patente.

El entrecruzamiento se lleva a cabo *in situ* después de que la columna haya sido recubierta con uno de los polímeros relacionados en la Tabla 27-2. Una forma de realizar el entrecruzamiento consiste en incorporar un peróxido al líquido original. Al calentarse la película se inicia, por un mecanismo de radicales libres, la reacción entre los grupos metilo en las cadenas del polímero; de este modo, las moléculas del polímero se unen mediante enlaces cruzados de carbono a carbono. Las películas que resultan de estos tratamientos son menos extraíbles y tienen una estabilidad térmica mucho mayor que las películas no tratadas. En otras ocasiones, la polimerización también se ha iniciado por exposición de las columnas recubiertas a radiación gamma.

Espesor de la película

Las columnas comercializadas están disponibles con fases estacionarias cuyo espesor varía de 0,1 a 5 μm . El espesor de la película afecta principalmente a las características de retención y a la capacidad de la columna. Las películas gruesas se utilizan con analitos muy volátiles, debido a que estas películas retienen durante más tiempo los solutos, y así proporcionan un mayor tiempo para que pueda tener lugar la separación. Las películas delgadas son apro-

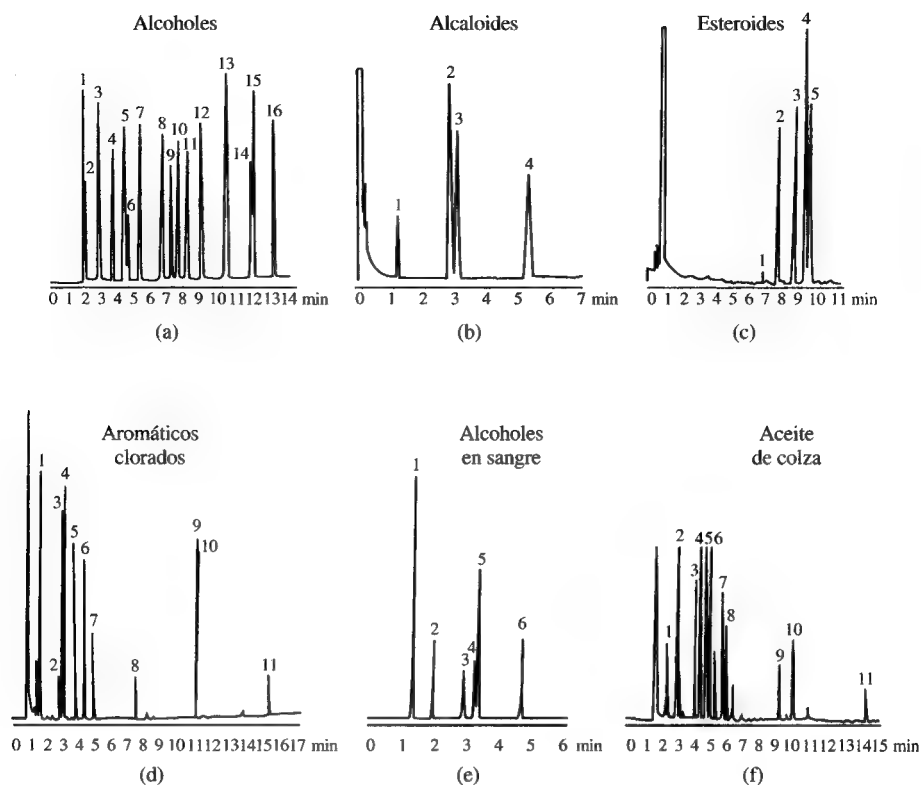


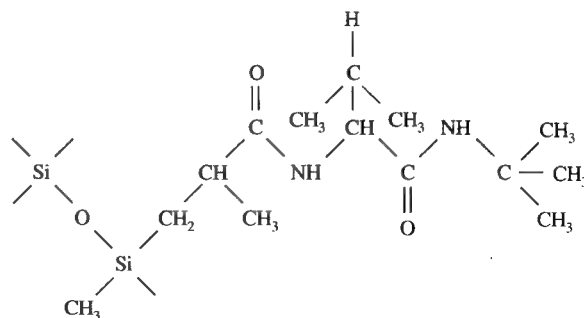
Figura 27-11. Cromatogramas característicos obtenidos con columnas capilares recubiertas con (a) polidimetilsiloxano; (b) 5 por 100 (fenilmetildimetil)siloxano; (c) 50 por 100 (fenilmetildimetil)siloxano; (d) 50 por 100 poli(trifluoropropildimetil)siloxano; (e) polietilenglicol; (f) 50 por 100 poli(cianopropil-dimetil) siloxano. (Cortesía de J & W Scientific.)

piadas para separar especies de baja volatilidad en un tiempo razonable. Para la mayoría de las aplicaciones con columnas de 0,26 o 0,32 mm, se recomienda un grosor de película de 0,26 μm . Con columnas megacapilares se utilizan generalmente películas de 1 a 1,5 μm . Hoy en día, se encuentran en el mercado columnas con películas de hasta 8 μm .

Fases estacionarias quirales

Durante la pasada década, se ha realizado un gran esfuerzo para el desarrollo de métodos para la separación de enantiómeros por cromatografía de gases o de líquidos. Se han empleado dos procedimientos, uno se basa en la formación de compuestos derivados del analito con un reactivo ópticamente activo, lo que origina un par de diastereoisómeros que se puedan separar en una columna aquiral. El método alternativo utiliza un líquido quiral como fase estacionaria. Con esta finalidad, se han desarrollado diversas fases quirales derivadas de ami-

noácidos, y es probable que en un futuro próximo aparezcan más fases líquidas de este tipo⁸. A continuación se indica la estructura de uno de esos líquidos que se ha utilizado en la separación de aminoácidos ópticamente activos:



L-valina-1-butilamida en carboximetilsiloxano

⁸ Para una revisión de las separaciones en fase estacionaria quiral por cromatografía de gases, véase: J. V. Hinshaw, *LC-GC*, 1993, 11, 644.

27D. APLICACIONES DE LA CROMATOGRAFÍA GAS-LÍQUIDO (GLC)

Para evaluar la importancia de la GLC, es necesario distinguir entre los dos papeles que desempeña la técnica. El primero como herramienta de separación eficaz; en este sentido, resulta inmejorable cuando se aplica a muestras orgánicas complejas, a organometálicos y a sistemas bioquímicos que sean especies volátiles o especies que pueden derivatizarse para dar sustancias volátiles. El segundo, claramente distinto, es el de proporcionar un medio para llevar a cabo un análisis. En este caso se emplean los tiempos o volúmenes de retención para la identificación cualitativa, mientras que las alturas de los picos o sus áreas dan información cuantitativa. Con fines cualitativos, la GLC es una técnica mucho más limitada que la mayoría de los métodos espectroscópicos que se han considerado en los capítulos anteriores. En consecuencia, una tendencia importante en este campo ha consistido en la combinación de las notables cualidades para el fraccionamiento que tiene la GLC con las mejores propiedades para la identificación que proporcionan algunos instrumentos como los espectrómetros de masas, de infrarrojo y de RMN (véase Apartado 27D-3).

27D-1. Análisis cualitativo

Los cromatogramas de gases se utilizan a menudo como criterio de pureza de compuestos orgánicos. Los contaminantes, si están presentes, se manifiestan por la aparición de picos adicionales; las áreas de estos picos proporcionan una estimación aproximada del grado de contaminación. La técnica también es útil para evaluar la efectividad de los procedimientos de purificación.

En teoría, los tiempos de retención deberían servir para la identificación de los componentes de una mezcla. Sin embargo, la aplicabilidad de tales datos está limitada por el número de variables que deben ser controladas para obtener resultados reproducibles. No obstante, la cromatografía de gases es un medio excelente para confirmar la presencia o ausencia de un supuesto componente en una mezcla, siempre que se disponga de un patrón. Tras la adición del compuesto conocido a la muestra, el cromatograma no debe presentar ningún pico nuevo, y debe observarse el aumento de alguno de los

picos ya existentes. La prueba es particularmente convincente si el resultado se repite con columnas diferentes y a distintas temperaturas.

Factores de selectividad

Como se ha visto (Apartado 26B-3) el factor de selectividad α , para los compuestos A y B, viene dado por la relación

$$\alpha = \frac{K_B}{K_A} = \frac{(t_R)_B - t_M}{(t_R)_A - t_M} = \frac{(t'_R)_B}{(t'_R)_A}$$

Si se elige como sustancia patrón el compuesto B, entonces α puede proporcionar un índice para la identificación del compuesto A, que es en gran parte independiente de las variables de la columna excepto de la temperatura; esto es, pueden obtenerse tablas numéricas de factores de selectividad para compuestos puros relativos a un estándar común, y en consecuencia utilizarse para la caracterización de solutos. Desafortunadamente, no es posible encontrar un patrón universal que permita obtener factores de selectividad de una magnitud razonable para todos los tipos de analitos. Así, el conjunto de factores de selectividad disponibles actualmente en la literatura es limitado hoy en día.

Índice de retención

El índice de retención I fue propuesto por primera vez por Kovats en 1958 como un parámetro para identificar solutos a partir de los cromatogramas⁹. El índice de retención para un soluto dado puede deducirse del cromatograma de una mezcla del soluto con al menos dos alcanos normales (de cadena lineal) que tengan unos tiempos de retención tales, que el del soluto considerado quede entre los mismos. Esto es, los alcanos normales son los patrones en los que se basa la escala de índices de retención. Por definición, el índice de retención para un alcano normal es igual a 100 veces el número de carbonos del compuesto *sin considerar el relleno de la columna, la temperatura u otras condiciones cromatográficas*. El índice de retención para todos aquellos compuestos que no sean alcanos normales varía, a menudo varios cientos de unidades de índice de retención, con las variables de la columna.

Es bien conocido que en una serie homóloga la representación gráfica del logaritmo del tiempo de

⁹ E. Kovats, *Helv. Chim. Acta*, **1958**, *41*, 1915.

retención ajustado t'_R ($t'_R = t_R - t_M$) frente al número de átomos de carbono es lineal, siempre que se excluya el miembro de la serie con menor número de átomos de carbono; en la Figura 27-12 se muestra la gráfica correspondiente a los alcanos normales C_4 a C_9 . En ordenadas se indica también el logaritmo de los tiempos de retención de tres compuestos para la misma columna y a la misma temperatura; sus índices de retención se obtienen multiplicando por 100 los correspondientes valores de abscisa. De este modo, el índice de retención del tolueno es 749 mientras que el del benceno es 644.

Normalmente no se requiere un procedimiento gráfico para determinar los índices de retención; en su lugar, los datos de retención ajustados se deducen por interpolación a partir de un cromatograma de una mezcla del soluto de interés y dos o más alcanos patrón.

Es importante repetir que el índice de retención para un alcano normal es independiente de la temperatura y del relleno de la columna. Así, I para el heptano, por definición, siempre es 700. Por el contrario, los índices de retención de los demás solutos con frecuencia pueden variar, y a menudo lo hacen, considerablemente de una columna a otra. Por ejemplo, el índice de retención del acenafeno en una fase estacionaria de polidimetilsiloxano po-

limerizado, a 140 °C es 1.460. Con polifenildimetilsiloxano (5 por 100 fenilo) como fase estacionaria, a la misma temperatura resulta ser 1.500, mientras que con polietilenglicol como fase estacionaria, el índice de retención es 2.084.

El sistema de índices de retención tiene la ventaja de basarse en materiales de referencia disponibles fácilmente que cubren un amplio intervalo de puntos de ebullición. Además, la dependencia de los índices de retención con la temperatura es relativamente pequeña. En 1984, los laboratorios Sadtler Research Laboratories introdujeron una biblioteca de datos con los índices de retención medidos en cuatro tipos de columnas abiertas de sílice fundida. El formato informatizado de la base de datos permite la búsqueda del índice de retención y el acceso con un ordenador sencillo a su posible identidad¹⁰.

27D-2. Análisis cuantitativo

La señal del detector de una columna cromatográfica gas-líquido se ha utilizado generalmente para análisis cuantitativos y semicuantitativos. En condiciones cuidadosamente controladas se puede alcanzar una exactitud (relativa) del 1 por 100. Como con la mayoría de las técnicas analíticas, la fiabilidad se relaciona directamente con el control de las variables; la exactitud también depende en parte de la naturaleza de la muestra. La discusión general del análisis cuantitativo cromatográfico, dada en el Apartado 26F-2, se aplica tanto a la cromatografía de gases como a los otros tipos; por esta razón no se hacen aquí más consideraciones sobre este aspecto.

27D-3. Acoplamiento de la cromatografía de gases con métodos espectroscópicos

La cromatografía de gases a menudo se combina con otras técnicas selectivas como la espectroscopia y la electroquímica. Los métodos que resultan se denominan *métodos acoplados*, y proporcionan al químico unas potentes herramientas para la identificación de los componentes de mezclas complejas¹¹.

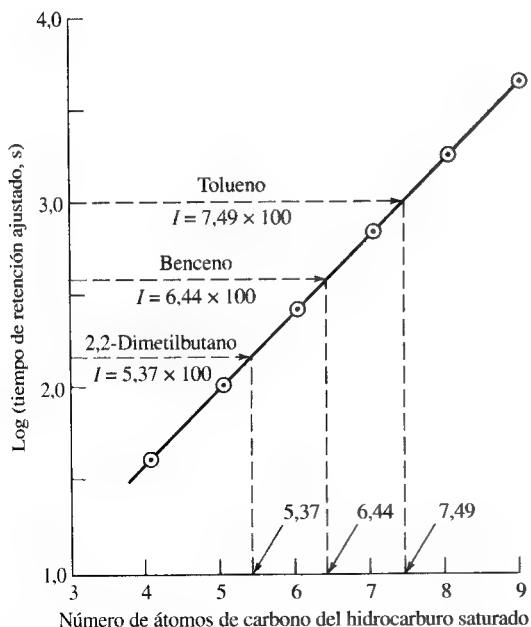


Figura 27-12. Ilustración gráfica del método de determinación de los índices de retención de tres compuestos. Fase estacionaria: escualano. Temperatura: 60 °C.

¹⁰ Véase J. F. Sprouse y A. Varano, *Amer. Lab.*, **1984** (9), 54.

¹¹ Para una revisión de los métodos acoplados, véase T. Hirschfeld, *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 297A; C. L. Wilkins, *Science*, **1983**, 222, 291; *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 571A; P. R. Griffiths, y col., *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 1349A.

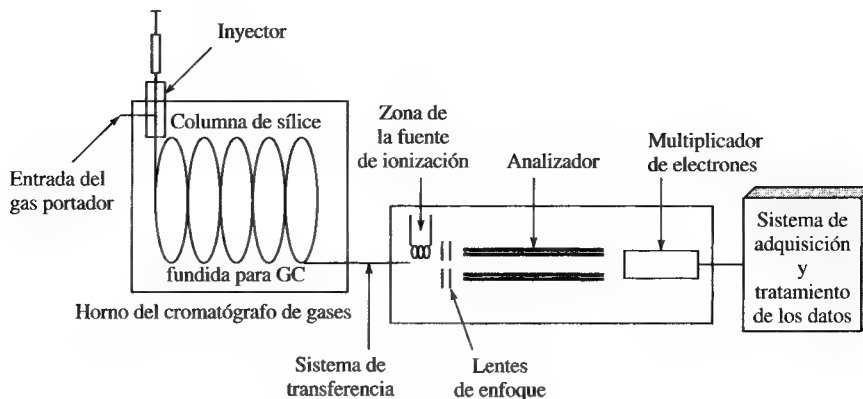


Figura 27-13. Esquema de un cromatógrafo de gases de columna abierta/espectrómetro de masas.

En los primeros métodos acoplados, los gases efluentes de una columna cromatográfica, después de ser detectados por un detector no destructivo y no selectivo, se recogían como fracciones separadas en una trampa fría. La composición de cada una de las fracciones se investigaba por resonancia magnética nuclear, infrarrojo, o espectrometría de masas, o por medidas electroanalíticas. Una importante limitación en esta metodología era que las cantidades de soluto que contenían las fracciones eran muy pequeñas (normalmente micromoles); a pesar de ello, el procedimiento general resultaba útil para el análisis cualitativo de muchas mezclas multicomponente.

Un segundo método general, que tiene actualmente un uso muy extendido, consiste en la aplicación de un detector selectivo para controlar continuamente el efluente de la columna. Por lo general, estos procedimientos requieren un control de los instrumentos mediante ordenador, y el uso de la memoria de un ordenador para almacenar los datos espectrales y su posterior presentación como espectros y cromatogramas.

Cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS)

Algunos fabricantes de instrumentos ofrecen equipos de cromatografía de gases que pueden acoplarse directamente con distintos tipos de espectrómetros de masas de barrido rápido¹². El caudal de las

columnas capilares en general es suficientemente bajo como para que la salida de la columna pueda introducirse directamente en la cámara de ionización de un espectrómetro de masas. En la Figura 27-13 se muestra un esquema de un sistema de este tipo. Sin embargo, en el caso de columnas rellenas así como en las columnas megacapilares ha de emplearse un separador de chorro, como el que muestra la Figura 27-14, para eliminar la mayor parte del gas portador que acompaña al analito. En este dispositivo, la salida de gases fluye a través de la boquilla de un separador de chorro (de vidrio), el cual aumenta el momento lineal de las moléculas más pesadas del analito, de tal forma que el 50 por 100 o más de éstas se desplazan aproximadamente en línea recta hacia el conducto colector de salida. Por el contrario, los átomos de helio ligeros se desvían por el vacío y son succionados hacia el exterior.

La mayoría de los espectrómetros de masas cuadrupolar y de sector magnético se suministran con los accesorios necesarios para ser acoplados a un equipo de cromatografía de gases. Además, los espectrómetros de masas de transformada de Fourier descritos en el Apartado 20C-4 se han acoplado a columnas de cromatografía de gases¹³. Su rapidez y alta sensibilidad son especialmente ventajosas para esta aplicación.

Desde finales de los años setenta han aparecido en el mercado diversos espectrómetros de masas

¹² Para una información adicional, véase G. M. Message, *Practical Aspects of Gas Chromatography/Mass Spectrometry*. New York: Wiley, 1984; J. Masucci y G. W. Caldwell, en *Modern Practice of Gas Chromatography* 3.^a ed., R. L. Grob, Ed.

Capítulo 6, New York: Wiley-Interscience, 1995; C. L. Wilkins, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 571A; J. Fjeldsted y J. Truche, *Amer. Lab.*, **1989** (10), 33.

¹³ E. B. Ledford, y col., *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 2550.

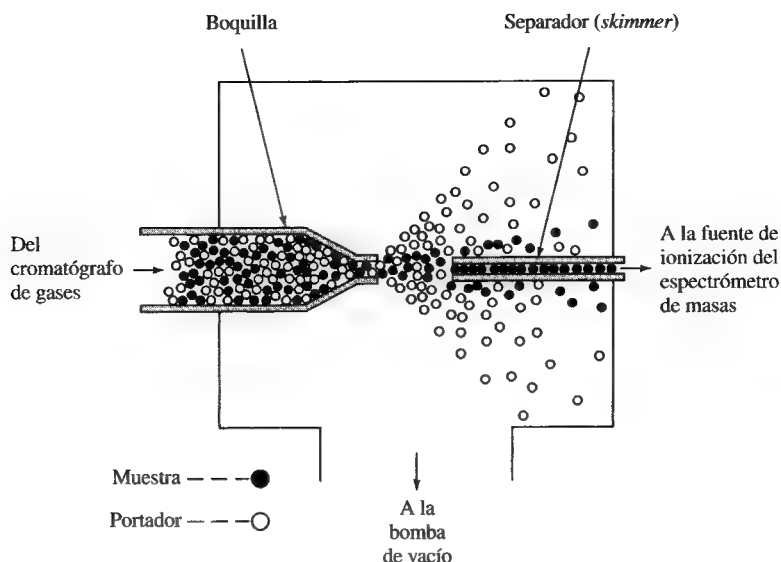


Figura 27-14. Esquema de un separador de chorro. (Cortesía de DuPont Instrument Systems, Wilmington, DE.)

diseñados específicamente como detectores para cromatografía de gases. Generalmente, se trata de instrumentos de cuadrupolo compacto, los cuales son más baratos (de 25.000 a 50.000 dólares) y más fáciles de utilizar y de mantener que los espectrómetros de masas multifuncionales descritos en el Capítulo 20¹⁴.

El detector de masas más simple para cromatografía de gases es el *detector de trampa de iones* (ITD)¹⁵ (véanse Apartado 20C-3 y Figura 20-15). En este instrumento, los iones se generan por impacto de electrones o por ionización química, a partir de la muestra eluida, y luego se mantienen en un campo de radiofrecuencia (véase Fig. 27-15). A continuación, los iones atrapados se expulsan del área de almacenamiento hacia un detector multiplicador de electrones. La expulsión se controla de tal forma que es posible un barrido en función de la relación masa/carga. El detector de trampa de iones es extraordinariamente compacto y más barato que los instrumentos de cuadrupolo.

Los detectores espectrométricos de masas tienen por lo común varias formas de presentación de

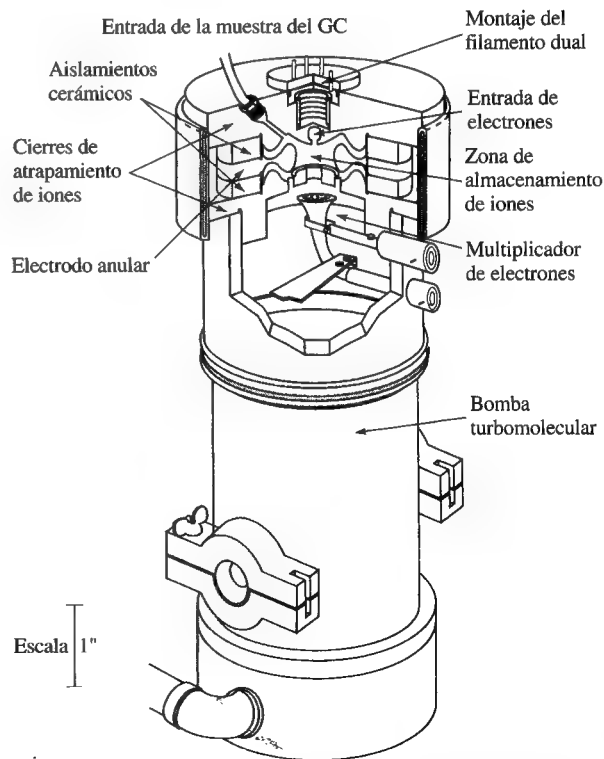


Figura 27-15. Esquema del detector de trampa de iones. (Reproducción autorizada de G. C. Stafford Jr., P. E. Kelley y D. C. Bradford, Amer. Lab., 1983, 15(6), 51. Copyright 1983 por International Scientific Communications, Inc.)

¹⁴ Véase F. Wach, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 927A, para las descripciones de los diferentes instrumentos de GC/MS.

¹⁵ G. C. Stafford Jr., P. E. Kelley y D. C. Bradford, *Amer. Lab.*, **1983**, 15 (6), 51; S. A. Borman, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 726A.

datos, que se agrupan en dos categorías: de tiempo real y reconstruidos por ordenador. Dentro de cada una de estas categorías se puede elegir entre los cromatogramas que registran la intensidad de todos los iones (una representación de la suma de las intensidades de todos los iones en función del tiempo), los cromatogramas que registran la intensidad de un ion seleccionado (una representación de la intensidad para uno o unos pocos iones en función del tiempo), y los espectros de masas de diversos picos. Los espectros de masas a tiempo real se presentan en la pantalla de un osciloscopio equipada con marcadores de masa; el cromatograma de masas puede presentarse en la pantalla del osciloscopio o como un gráfico a tiempo real. Después de completarse la separación, los cromatogramas reconstruidos por ordenador pueden presentarse en la pantalla o pueden imprimirse. Los espectros de masas reconstruidos para cada pico también se pueden presentar en pantalla o imprimir. Algunos instrumentos están equipados además con colecciones de espectros para la identificación de los compuestos.

Los instrumentos de cromatografía de gases/espectrometría de masas se han utilizado para la identificación de cientos de componentes que están presentes en sistemas naturales y biológicos. Por ejemplo, estos procedimientos han permitido caracterizar los componentes responsables del olor y del sabor en los alimentos, identificar contaminantes del agua, llevar a cabo diagnósticos médicos basados en los componentes del aliento y estudios sobre los metabolitos de fármacos.

En la Figura 27-16 se muestra un ejemplo de aplicación de la GC/MS. La figura superior es el cromatograma de masas reconstruido por ordenador de una muestra tomada de una cámara medioambiental durante la combustión de una tela tratada con un producto ignífugo. La ordenada en este caso es la intensidad total de iones, mientras que la abscisa representa el tiempo de retención. La figura inferior muestra el espectro de masas reconstruido por ordenador del pico 12 del cromatograma. Aquí, las intensidades relativas de los iones se representan en función del número de masa.

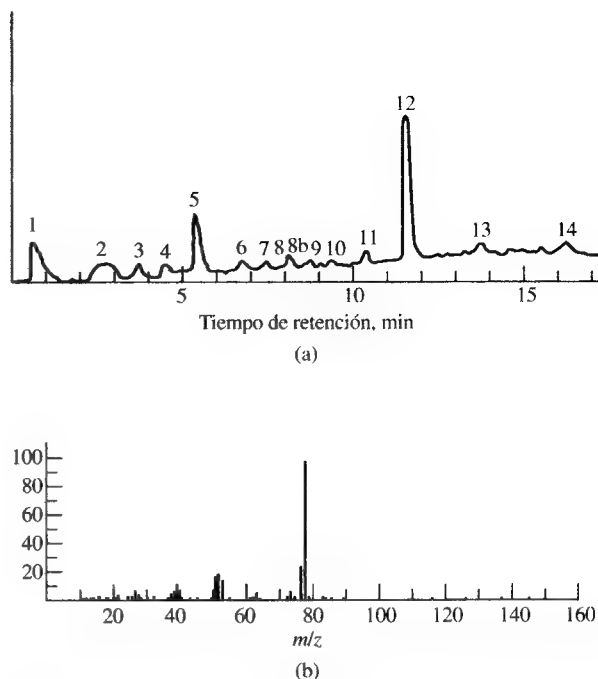


Figura 27-16. Señal de salida característica de un instrumento de GC/MS. La curva superior muestra un cromatograma reconstruido por ordenador. Los picos corresponden a: (1) aire, (2) agua, (3) cianuro de hidrógeno, (4) desconocido, (5) acetaldehído, (6) etanol, (7) acetonitrilo, (8) acetona, (8b) desconocido, (9) disulfuro de carbono, (10) desconocido, (11) desconocido, (12) benceno, (13) tolueno, (14) xileno. El gráfico inferior es el espectro de masas reconstruido por ordenador para el pico 12 (benceno). (Reproducción autorizada de T. W. Sickels y D. T. Stafford, Amer. Lab., 1977, 12(5), 17. Copyright 1977 por International Scientific Communications, Inc.)

de transformada de Fourier proporciona un potente medio para la separación y la identificación de los componentes de mezclas complejas. Varios instrumentos de este tipo se ofrecen actualmente por las casas comerciales¹⁶.

Como en el caso de la GC/MS, resulta crítica la interfase de acoplamiento entre la columna y el detector. En este caso, un tubo o conducto de luz de 10 a 40 cm de longitud y de 1 a 3 mm de diámetro interno se conecta a la columna mediante un tubo estrecho. El conducto de luz, que se muestra esquemáticamente en la Figura 27-17, consiste en un

Cromatografía de gases/espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (GC/FTIR)

El acoplamiento de cromatógrafos de gases con columnas capilares con espectrómetros de infrarrojo

¹⁶ Véase C. Fujimoto y K. Jinno, *Anal. Chem.*, **1992**, 64, 476A; P. R. Griffiths, S. L. Pentoney, A. Giorgetti y K. H. Shatter, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 1349A; C. L. Wilkins, *Science*, **1983**, 222, 291; P. R. Griffiths, J. A. de Haseth y L. V. Azarraga, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 1361A; S. A. Borman, *Anal. Chem.*, **1982**, 54, 901A.

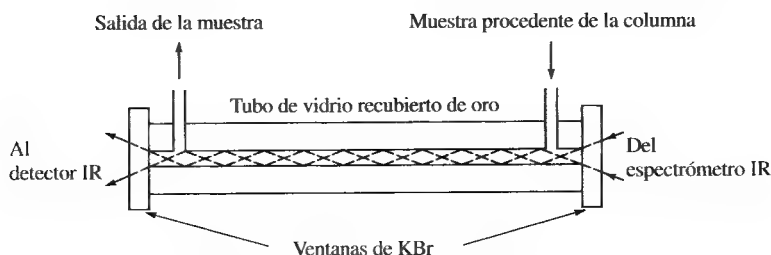


Figura 27-17. Diseño típico del conducto de luz para instrumentos de GC/IR.

tubo de Pyrex recubierto internamente con oro. La transmisión de la radiación tiene lugar por múltiples reflexiones en la pared. A menudo se calienta el conducto de luz con objeto de evitar la condensación de los componentes de la muestra. Los conductos de luz de este tipo se diseñan para maximizar el camino óptico y aumentar la sensibilidad, minimizando, a su vez, el volumen muerto para así disminuir el ensanchamiento de banda. Los detectores de la radiación son normalmente dispositivos fotoconductores altamente sensibles de mercurio/telurio de cadmio, refrigerados con nitrógeno líquido. El barrido se provoca por la salida de un pico cromatográfico en un detector no destructivo y empieza después de un pequeño intervalo de tiempo que permite que el componente se desplace desde la región del detector hasta la de la celda de infrarrojo. Los datos espectrales se digitalizan y se almacenan en un ordenador y a partir de ellos se obtienen por último los espectros. A veces se tropieza con dificultades cuando se intenta comparar los espectros correspondientes a los efluentes gaseosos de la columna con los espectros de la biblioteca que se han obtenido a partir de muestras sólidas o líquidas. Los espectros de gases contienen una estructura rotacional fina, que está ausente en los espectros de sólidos o líquidos; en consecuencia se observan diferencias significativas en el aspecto de los espectros. Otra diferencia entre los espectros en fase gaseosa y en fase líquida es la ausencia en los primeros de bandas debidas a interacciones moleculares, tales como los puentes de hidrógeno en alcoholes y en ácidos.

Como en el caso de la GC/MS, están siendo desarrolladas bibliotecas de espectros digitalizados y sistemas de búsqueda para manipular la enorme cantidad de datos que producen los instrumentos de MS/FTIR, aun con muestras relativamente sencillas¹⁷.

27E. CROMATOGRAFÍA GAS-SÓLIDO

La cromatografía gas-sólido se basa en la adsorción de sustancias gaseosas sobre superficies sólidas. Los coeficientes de distribución son generalmente mucho mayores que en el caso de la cromatografía gas-líquido. En consecuencia, la cromatografía gas-sólido es útil para la separación de especies que no se retienen en columnas de gas-líquido, tales como los componentes del aire, sulfuro de hidrógeno, disulfuro de carbono, óxidos de nitrógeno, monóxido de carbono, dióxido de carbono y gases nobles.

La cromatografía gas-sólido se lleva a cabo tanto en columnas de relleno como en columnas abiertas. En estas últimas, se fija en las paredes del capilar una delgada capa del adsorbente; estas columnas a veces se denominan *columnas abiertas de pared porosa*, o columnas PLOT. Se encuentran dos tipos de adsorbentes: los tamices moleculares y los polímeros porosos.

27E-1. Tamices moleculares

Los tamices moleculares son intercambiadores de iones de silicato de aluminio, cuyo tamaño de poro depende del tipo de catión presente. Los preparados comerciales de estos materiales están disponibles en tamaños de partícula de 40/60 mesh a 100/120 mesh. Los tamices se clasifican según el diámetro máximo de las moléculas que pueden penetrar en los poros. Los tamices moleculares comerciales se encuentran con tamaños de poro de 4, 5, 10 y 13 Å. Las moléculas más pequeñas que las dimensiones anteriores penetran en el interior de las partículas donde tiene lugar la adsorción, para estas moléculas el área de la superficie disponible es enorme cuando se compara con el área disponible para las moléculas más grandes. Por ello, los

¹⁷ Para una descripción de uno de estos sistemas, véase S. R. Lowry y D. A. Huppler, *Anal. Chem.*, **1981**, 53, 889.

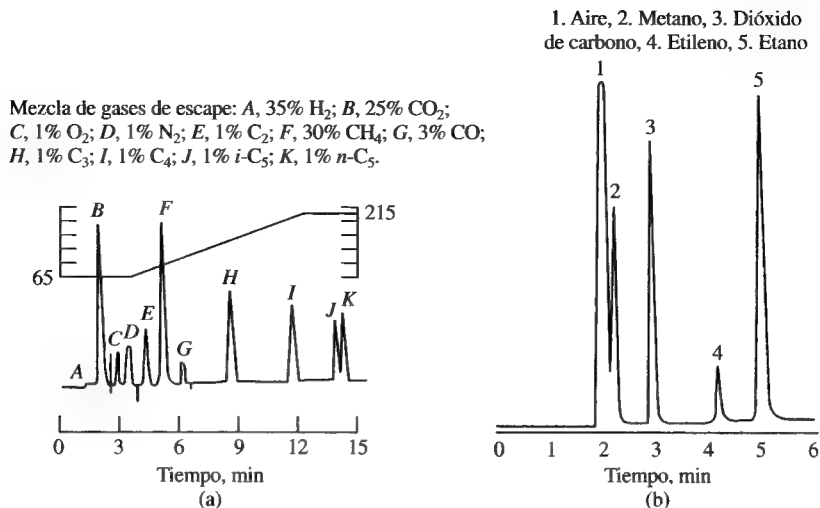


Figura 27-18. Ejemplos típicos de separaciones por cromatografía gas-sólido: (a) 5' $\times$ $\frac{1}{8}$ '' columna de tamices moleculares; (b) 30 m $\times$ 0,53 mm columna PLOT.

tamices moleculares se pueden utilizar para separar las moléculas pequeñas de las grandes. Por ejemplo, un relleno de 5 Å y 183 cm de largo, a temperatura ambiente, separará fácilmente una mezcla de helio, oxígeno, nitrógeno, metano y monóxido de carbono en este orden. La Figura 27-18a muestra un típico cromatograma obtenido con tamices moleculares. En esta aplicación se utilizan dos columnas de relleno: una es una columna de gas-líquido ordinaria y la otra es una columna de tamices moleculares. La primera retiene solamente el dióxido de carbono y deja pasar los restantes gases a una velocidad que corresponde a la velocidad del portador. Cuando el dióxido de carbono eluye de la primera columna, un conmutador desvía el flujo de la segunda columna para evitar la adsorción permanente del dióxido de carbono en los tamices moleculares. Una vez que la señal del dióxido de carbono ha vuelto a cero, el flujo se reconduce a través de la

segunda columna, y de este modo se produce la separación y elución del resto de los componentes de la muestra.

27E-2. Polímeros porosos

Las bolitas de polímeros porosos de tamaño uniforme se fabrican a partir de estireno polimerizado con divinilbenceno (Apartado 27G-2). El tamaño de poro en estas bolitas es uniforme y se controla por el grado de polimerización. Los polímeros porosos han encontrado una gran aplicación en la separación de especies polares gaseosas tales como sulfuro de hidrógeno, óxidos de nitrógeno, agua, dióxido de carbono, metanol y cloruro de vinilo. En la Figura 27-18b se muestra una aplicación característica de una columna abierta revestida con un polímero poroso (columna PLOT).

27F. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 27-1. ¿En qué se diferencian la cromatografía gas-líquido y la gas-sólido?
- 27-2. ¿Qué tipo de mezclas se separan por cromatografía gas-sólido?
- 27-3. ¿Por qué la cromatografía gas-sólido no se utiliza tan extensamente como la cromatografía gas-líquido?
- 27-4. Definir (a) volumen de retención, (b) volumen de retención neto, (c) volumen de retención específico.

- 27-5. ¿Cómo funciona un medidor de flujo de bombas de jabón?
- 27-6. ¿Qué es la programación de temperatura en cromatografía de gases?
- 27-7. ¿Cuál es la diferencia entre un detector sensible a la concentración y un detector sensible a la masa? Indicar a qué tipo corresponden los siguientes detectores: (a) conductividad térmica, (b) emisión atómica, (c) termoiónico, (d) captura de electrones, (e) fotometría de llama, (f) fotoionización.
- 27-8. Describir el fundamento en el que se basan los detectores enumerados en el Problema 27-7.
- 27-9. ¿Cuáles son las principales ventajas y limitaciones de cada uno de los detectores mencionados en el Problema 27-7?
- 27-10. ¿Cuál es el material de relleno utilizado en la mayoría de las columnas rellenas para cromatografía de gases?
- 27-11. ¿En qué se diferencian las siguientes columnas abiertas?
(a) Columnas PLOT; (b) Columnas WCOT; (c) Columnas SCOT
- 27-12. ¿En qué consisten las columnas megacapilares? ¿Para qué se utilizan?
- 27-13. ¿Cuáles son las ventajas de las columnas capilares de sílice fundida en comparación con las columnas de vidrio o las metálicas?
- 27-14. ¿Qué propiedades debe tener una fase estacionaria líquida en cromatografía de gases?
- 27-15. ¿Por qué las fases estacionarias en cromatografía de gases están con frecuencia enlazadas o polimerizadas? ¿Qué significado tienen estos términos?
- 27-16. ¿Qué efecto tiene el espesor de la película de la fase estacionaria en cromatografía de gases sobre los cromatogramas?
- 27-17. ¿Qué son los índices de retención? Describir cómo se determinan.
- 27-18. ¿Cómo es normalmente un cromatograma obtenido en GC/MS? ¿y en GC/IR?
- 27-19. El mismo compuesto polar se analiza por cromatografía de gases con una columna SE-30 (muy poco polar) y luego con una columna carbowax 20M (muy polar). ¿Cómo variará $K = c_s/c_m$ entre las dos columnas?
- 27-20. Utilizar los datos que se dan a continuación para calcular el índice de retención del 1-hexeno.

Muestra	Tiempo de retención (min)
aire	0,571
<i>n</i> -pentano	2,16
<i>n</i> -hexano	4,23
1-hexeno	3,15

- 27-21. Se utilizó una columna GLC en las siguientes condiciones de trabajo:
- **columna:** 1,10 m × 2,0 mm rellena con Chromosorb P; peso de fase estacionaria líquida añadida, 1,40; densidad del líquido 1,02 g/mL;
 - **presiones:** entrada, 26,1 psi por encima de la atmosférica; atmosférica, 748 torr;
 - **caudal de salida medido:** 25,3 mL/min;

- **temperatura:** ambiente, 21,2 °C; columna, 102,0 °C;
- **tiempos de retención:** aire, 18,0 s; acetato de metilo, 1,98 min; propionato de metilo, 4,16 min; *n*-butirato de metilo, 7,93 min;
- **anchura de picos en su base:** 0,19; 0,39 y 0,79 min, respectivamente.

Calcular:

- El caudal promedio en la columna.
 - Los volúmenes de retención netos para el aire y para los tres ésteres.
 - Los volúmenes de retención específicos para los tres componentes.
 - Los coeficientes de distribución de cada uno de los ésteres.
 - Un volumen de retención neto y el tiempo de retención para el *n*-hexanoato de metilo.
- 27-22.** Con los datos del Problema 27-21, calcular:
- k' para cada compuesto.
 - Los valores de α para cada pareja de compuestos adyacentes.
 - El número de platos teóricos y la altura de plato de la columna.
 - La resolución para cada pareja de compuestos adyacentes.
- 27-23.** El líquido estacionario en la columna descrita en el Problema 27-21 era dideciltalato, un disolvente de polaridad intermedia. ¿Si se hubiera utilizado un disolvente no polar como un aceite de silicona, los tiempos de retención de los tres compuestos serían mayores o menores? ¿por qué?
- 27-24.** Los tiempos de retención ajustados para los alcoholes etílico, *n*-propílico y *n*-butílico empleando una columna de relleno recubierto de aceite de silicona son 0,69, 1,51 y 3,57 respectivamente. Predecir los tiempos de retención para los dos miembros siguientes de la serie homóloga.
- 27-25.** ¿Cuál sería en los siguientes casos el efecto sobre la altura de plato de una columna? Justificar la respuesta.
- Al aumentar el peso de la fase estacionaria en relación al peso del relleno.
 - Al disminuir la velocidad de inyección de la muestra.
 - Al aumentar la temperatura del bloque de inyección.
 - Al aumentar el caudal.
 - Al reducir el tamaño de partícula del relleno.
 - Al disminuir la temperatura de la columna.
- 27-26.** Calcular los índices de retención para cada uno de los siguientes compuestos:

Compuesto	$(t_R - t_M)$
(a) Propano	1,29
(b) <i>n</i> -Butano	2,21
(c) <i>n</i> -Pentano	4,10
(d) <i>n</i> -Hexano	7,61
(e) <i>n</i> -Heptano	14,08
(f) <i>n</i> -Octano	26,11
(g) Tolueno	16,32
(h) 2-Buteno	2,67
(i) <i>n</i> -Propanol	7,60
(j) Metiletilcetona	8,40
(k) Ciclohexano	6,94
(l) <i>n</i> -Butanol	9,83



Capítulo 28

Cromatografía de líquidos de alta eficacia

Este capítulo trata los cuatro tipos básicos, de cromatografía en los que la fase móvil es un líquido: (1) la **cromatografía de reparto**; (2) la **cromatografía de adsorción**, o **cromatografía líquido-sólido**; (3) la **cromatografía iónica**; y (4) **cromatografía de exclusión por tamaño**, o **cromatografía en geles**. La mayor parte de este capítulo tiene relación con las aplicaciones de estos cuatro importantes tipos de cromatografía en columna. Sin embargo, el último apartado presenta una breve descripción de la cromatografía de líquidos en plano, dado que esta técnica proporciona una forma simple y barata de obtener información acerca de las condiciones óptimas más probables para llevar a cabo las separaciones en columna.

En una primera etapa, la cromatografía de líquidos se llevaba a cabo en columnas de vidrio con diámetros de 1 a 5 cm y longitudes de 50 a 500 cm; en este tipo de columnas realizó Tswett sus trabajos originales. Para asegurar unos caudales razonables, el diámetro de las partículas de la fase estacionaria sólida por lo general era de 150 a 200 μm . Incluso así, los caudales eran bajos, llegando a

unas pocas décimas de mililitro por minuto. En consecuencia, los tiempos de separación eran largos, a menudo de varias horas. Sin embargo, los intentos para acelerar el procedimiento clásico mediante la aplicación de vacío o por bombeo no resultaron efectivos, puesto que el aumento de caudal originaba un aumento de la altura de plato por encima del mínimo característico que se observa en las gráficas de la altura de plato frente al caudal (véase Figura 26-7a) y el resultado era una menor eficacia.

En las primeras etapas del desarrollo de la cromatografía de líquidos, los científicos se dieron cuenta que se podían conseguir grandes aumentos en la eficacia de la columna disminuyendo el tamaño de las partículas de los rellenos. Sin embargo, no fue hasta finales de los años sesenta cuando se desarrolló la tecnología adecuada para producir y utilizar rellenos de tamaño de partícula tan pequeños como los del orden de 3 a 10 μm . Esta tecnología requiere una instrumentación sofisticada para poder trabajar a altas presiones, lo que contrasta notablemente con las simples columnas de vidrio de la cromatografía de líquidos clásica cuyo cau-

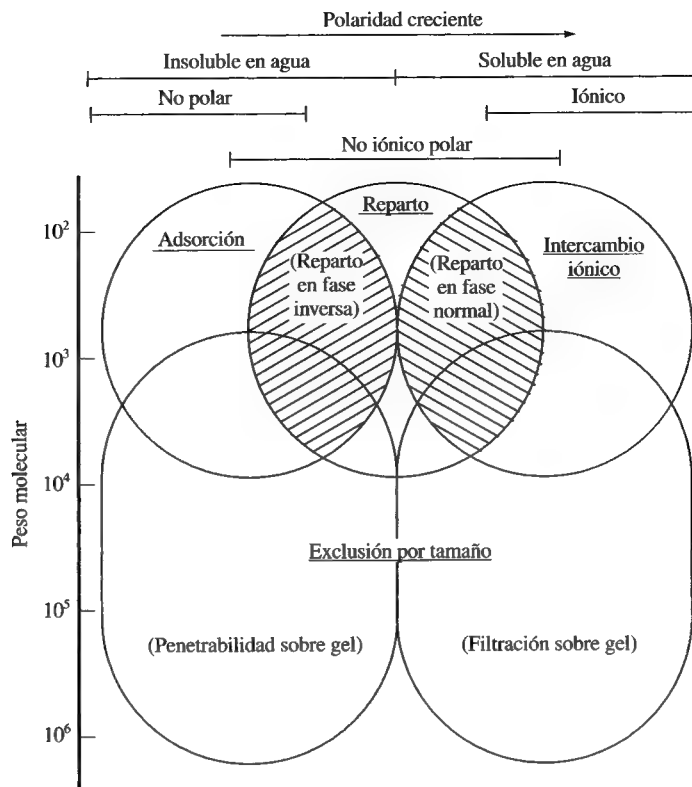


Figura 28-1. Aplicaciones de la cromatografía de líquidos.

dal se debe a la gravedad. Para distinguir estos procedimientos más nuevos de los métodos básicos, que todavía se utilizan con fines preparativos, se emplea la denominación de **cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC)**. Este capítulo trata exclusivamente de la HPLC¹.

28A. CAMPO DE APLICACIÓN DE LA HPLC

La cromatografía de líquidos de alta eficacia es la técnica analítica de separación más ampliamente

utilizada, con unas ventas anuales de equipos de HPLC que se aproximan a la cifra de mil millones (10^9) de dólares. Las razones de la popularidad de esta técnica son su sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para la separación de especies no volátiles o termolábiles y, sobre todo, su gran aplicabilidad a sustancias que son de primordial interés en la industria, en muchos campos de la ciencia y para la sociedad en general. Algunos ejemplos de estos materiales incluyen: aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarburos, carbohidratos, fármacos, terpenoides, plaguicidas, antibióticos, esteroides, especies organometálicas y una variedad de sustancias inorgánicas.

La Figura 28-1 pone de manifiesto que los distintos procedimientos que utilizan la cromatografía de líquidos tienden a ser complementarios por lo que a sus campos de aplicación se refiere. Así, para solutos con masas moleculares superiores a 10.000, a menudo se utiliza la cromatografía de exclusión por tamaño, aunque ahora también es posible tratar estos compuestos con cromatografía de reparto en fase inversa. Para especies iónicas de masa mole-

¹ Se dispone de un gran número de libros sobre cromatografía de líquidos. Entre ellos están: R. W. Scott, *Liquid Chromatography for the Analyst*. New York: Marcel Dekker, 1994; M. T. Gilbert, *High Performance Liquid Chromatography*. Bristol, UK: Wright, 1987; P. R. Brown y R. A. Hartwick, *High Performance Liquid Chromatography*. New York: Wiley, 1989; V. R. Meyer, *Practical High Performance Liquid Chromatography*. New York: Wiley, 1988. Para una reciente revisión sobre el pasado, presente y futuro desarrollo de la HPLC, véase P. R. Brown, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 995A.

cular mas pequeña, se utiliza con frecuencia la cromatografía de intercambio iónico. Los métodos de reparto se aplican a las especies poco polares pero no iónicas. Además, este procedimiento se utiliza muchas veces para la separación de los integrantes de una serie homóloga. La cromatografía de adsorción se elige con frecuencia para separar especies no polares, isómeros estructurales y grupos de compuestos como, por ejemplo, los hidrocarburos alifáticos de los alcoholes alifáticos.

28B. EFICACIA DE LA COLUMNA EN LA CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS

La discusión sobre el ensanchamiento de banda del Apartado 26C-3, por lo general, es aplicable a la cromatografía de líquidos. En esta sección se ilustra el importante efecto del tamaño de partícula del relleno que forma la fase estacionaria y se describen otras dos causas adicionales del ensanchamiento de zona, que a veces son de notable importancia en cromatografía de líquidos.

28B-1. Efectos del tamaño de partícula del relleno

Un examen del coeficiente de transferencia de masa de la fase móvil en la Tabla 26-3 (pági-

na 742) revela que C_M en la Ecuación 26-19 está relacionada directamente con el cuadrado del diámetro d_p de las partículas que constituyen el relleno. Como consecuencia de ello, la eficacia de una columna de HPLC debería mejorar espectacularmente cuando disminuye el tamaño de partícula. La Figura 28-2 es una demostración experimental de este efecto, y en ella se observa que una reducción del tamaño de partícula de 45 a 6 μm origina una disminución de diez o más veces de la altura de plato. Obsérvese que ninguna de las gráficas de esta figura presenta el mínimo que predice la Ecuación 26-19. Estos mínimos se observan en la cromatografía de líquidos (véase Fig. 26-7a), pero por lo común a caudales que son demasiado bajos para la mayoría de las aplicaciones prácticas.

28B-2. Ensanchamiento de banda extracolumna en cromatografía de líquidos

En cromatografía de líquidos, tiene lugar a veces un ensanchamiento de banda significativo fuera del relleno de la columna propiamente dicho. El así llamado *ensanchamiento de banda extra-columna*, tiene lugar cuando se transporta el soluto a través de tubos como los que se utilizan en los sistemas de inyección, en los detectores y en los tubos que conectan los distintos componentes del sistema. El en-

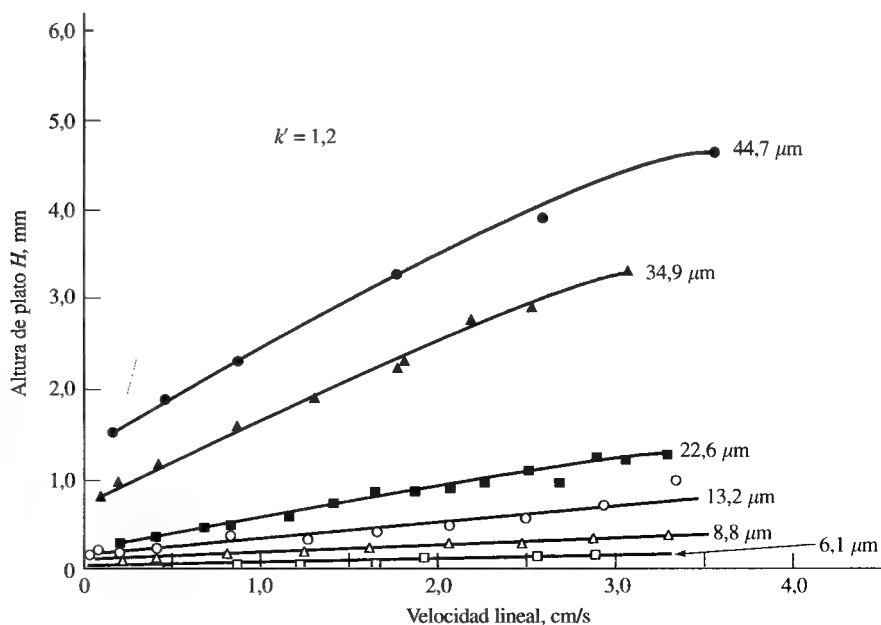


Figura 28-2. Efecto del tamaño de partícula del relleno y del caudal sobre la altura de plato H en cromatografía de líquidos. Dimensiones de la columna: 30 cm $\times$ 2,4 mm. Solutos: N,N-dietil-*n*-aminoazobenceno. Fase móvil: mezcla de hexano, cloruro de metileno y alcohol isopropílico.

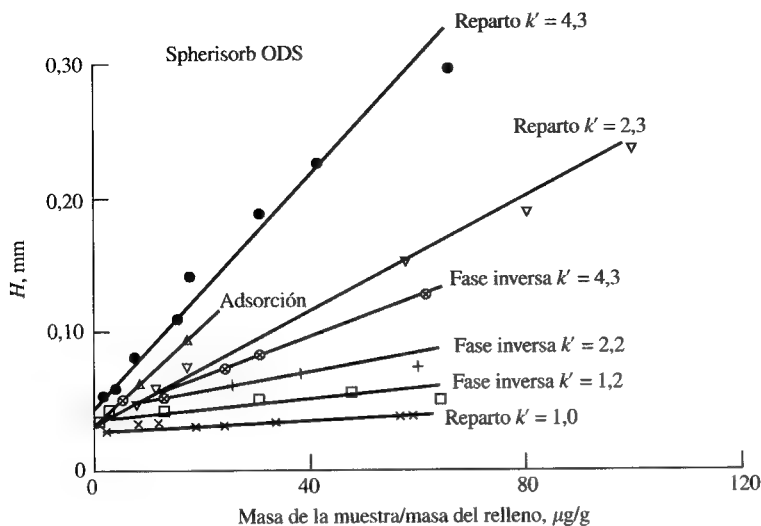


Figura 28-3. Efecto de masa relativa de muestra sobre la altura de plato.

sanchamiento proviene de las diferencias en la velocidad de flujo de las capas de líquido adyacentes a las paredes del tubo y las del centro. Como consecuencia, la parte central de una banda de soluto se mueve con más rapidez que la periférica. En cromatografía de gases la difusión compensa la dispersión extra-columna. Sin embargo, la difusión en los líquidos es significativamente menor, y con frecuencia este tipo de ensanchamiento de banda se hace evidente.

Se ha demostrado que la contribución a la altura total de plato de los efectos extra-columna H_{ex} , viene dada por²

$$H_{ex} = \frac{\pi r^2 u}{24 D_M} \quad (28-1)$$

donde u es la velocidad lineal de flujo en cm/s, r es el radio del tubo en cm, y D_M es el coeficiente de difusión del soluto en la fase móvil en cm²/s.

Cuando se utilizan columnas de pequeño diámetro, el ensanchamiento extra-columna puede hacerse bastante importante. En este caso, todos los esfuerzos han de orientarse a la reducción del radio de los tubos del sistema externos a la columna a valores inferiores a 0,10 pulgada (2,5 mm).

28B-3. Efecto del tamaño de muestra en la eficacia de la columna

La Figura 28-3 muestra el efecto de la cantidad de muestra (μg de muestra/g de relleno) sobre la efica-

cia en diversos tipos de cromatografía de líquidos. Obsérvese el mejor comportamiento de los rellenos de fase unida químicamente en fase inversa (Sección 28D-1) comparados con otros tipos de rellenos.

28C. INSTRUMENTACIÓN PARA CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS

Con objeto de alcanzar un caudal de eluyente razonable con rellenos de tamaño de partícula entre 2 y 10 μm, que, por otra parte, son comunes en la moderna cromatografía de líquidos, se requieren presiones de algunos cientos de kg-fuerza por centímetro cuadrado. Como consecuencia de estas elevadas presiones, el equipo necesario para la HPLC tiende a ser más sofisticado y caro que el que se utiliza en otros tipos de cromatografía. La Figura 28-4 muestra un esquema de los componentes fundamentales de un cromatógrafo de líquidos de alta eficacia típico; cada uno de los componentes se trata en los párrafos que siguen a continuación³.

³ Para un tratamiento detallado de los sistemas de HPLC, véase N. A. Parris, *Instrumental Liquid Chromatography*, 2.^a ed. New York: Elsevier 1984; *Practice of High Performance Liquid Chromatography: Applications, Equipment, and Quantitative Analysis*, H. Fagelhardt, Ed., Capítulo 1. New York: Springer-Verlag, 1986; A. Katritzky y R. J. Offerman, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **1989**, 21(4), 83.

² R. P. W. Scott y P. Kucera, *J. Chromatogr. Sci.*, **1971**, 9, 641.

28C-1. Recipientes para la fase móvil y sistemas para el tratamiento de los disolventes

Un aparato moderno de HPLC está equipado con uno o más recipientes de vidrio o de acero inoxidable, cada uno de los cuales contiene de 200 a 1.000 mL de un disolvente. Los recipientes, a menudo se equipan con un sistema para eliminar los gases disueltos —en general oxígeno y nitrógeno— que interfieren formando burbujas en la columna y en los sistemas de detección. Estas burbujas provocan ensanchamientos de banda y a menudo interfieren en el funcionamiento del detector. Un desgasificador puede consistir en un sistema de bombeo por vacío, un sistema de destilación, dispositivos para calentar y agitar los disolventes o, como se muestra en la Figura 28-4, sistemas de *purga* que permiten arrastrar los gases disueltos fuera de la solución mediante finas burbujas de un gas inerte de baja solubilidad. Con frecuencia estos sistemas tam-

bién contienen un dispositivo para la filtración del polvo y de las partículas sólidas en suspensión en los disolventes para evitar que estas partículas dañen la bomba o los sistemas de inyección u obturen la columna. No es necesario que los desgasificadores y los filtros sean partes integrantes de los sistemas de HPLC como se muestra en la Figura 28-4. Por ejemplo, una forma conveniente de tratar los disolventes antes de introducirlos en el recipiente, consiste en filtrarlos a vacío a través de un filtro (*millipore*) de tamaño de poro muy pequeño. Este tratamiento elimina los gases, así como la materia en suspensión.

Una separación que utiliza un solo disolvente de composición constante se denomina una *elución isocrática*. Con frecuencia, la eficacia de la separación se aumenta notablemente por una *elución con gradiente*. En este caso se utilizan dos o tres sistemas disolventes con una polaridad significativamente distinta. Una vez que comienza la elución, se varía la relación de los disolventes de forma programada, a veces continuamente y a veces median-

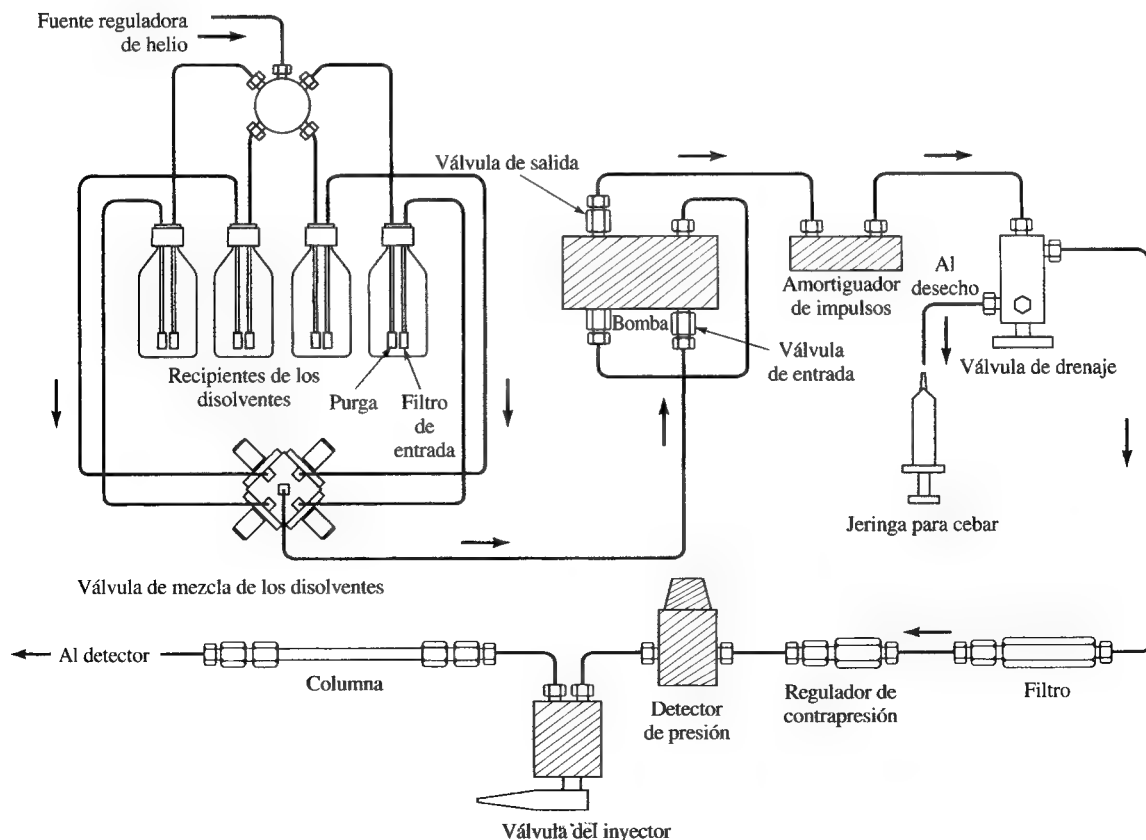


Figura 28-4. Esquema de un aparato de HPLC.

te una serie de etapas escalonadas. Los instrumentos en la moderna HPLC a menudo están equipados con unos dispositivos que permiten introducir los disolventes desde dos o más recipientes en una cámara de mezcla a una velocidad que varía continuamente y la relación de volumen de los disolventes se puede modificar lineal o exponencialmente con el tiempo.

La Figura 28-5 ilustra la ventaja de una elución con gradiente en la separación de una mezcla de

clorobencenos. La Figura 28-5b corresponde a la elución isocrática con metanol/agua, v/v, 50:50). La Figura 28-5a muestra la elución con gradiente, que se inicia con una mezcla 40:60 de los dos disolventes y se va aumentando la concentración de metanol un 8 por 100/min. Obsérvese que la elución con gradiente acorta notablemente el tiempo de separación sin sacrificar la resolución de los primeros picos. Obsérvese también que la elución con gradiente produce unos efectos similares a los producidos por la programación de temperatura en cromatografía de gases (véase Fig. 27-5).

28C-2. Sistemas de bombeo

Los requisitos para un sistema de bombeo en HPLC son rigurosos e incluyen (1) la generación de presiones por encima de 6.000 psi, (2) un flujo libre de pulsaciones, (3) un intervalo de caudales de 0,1 a 10 mL/min, (4) el control y la reproducibilidad del caudal mejor del 0,5 por 100 relativo y (5) componentes resistentes a la corrosión (juntas de acero inoxidable o Teflón). Debe subrayarse que las altas presiones que generan las bombas de HPLC no constituyen un riesgo de explosión, debido a que los líquidos no son muy compresibles. De este modo, la rotura de un componente del sistema sólo supone una pérdida de disolvente. Es evidente que esta pérdida puede suponer un riesgo de incendio.

Se utilizan tres tipos de bombas, cada una con sus propias ventajas y desventajas: bombas recíprocas, bombas de jeringa o de desplazamiento y bombas neumáticas o de presión constante.

Bombas recíprocas

Las bombas recíprocas, que se utilizan en aproximadamente el 90 por 100 de los sistemas de HPLC comerciales, consisten, por lo general, en una pequeña cámara en la que el disolvente es impelido por el movimiento de vaivén de un pistón accionado por un motor de arrastre (véase Fig. 28-6). Dos válvulas con cierre de bola, que se abren y cierran alternativamente, controlan el flujo del disolvente hacia dentro y hacia afuera de un cilindro. El disolvente está en contacto directo con el pistón. También se puede comunicar la presión al disolvente mediante un diafragma flexible, el cual a su vez se bombea hidráulicamente por un pistón de vaivén. Las bombas recíprocas tienen la desventaja de que

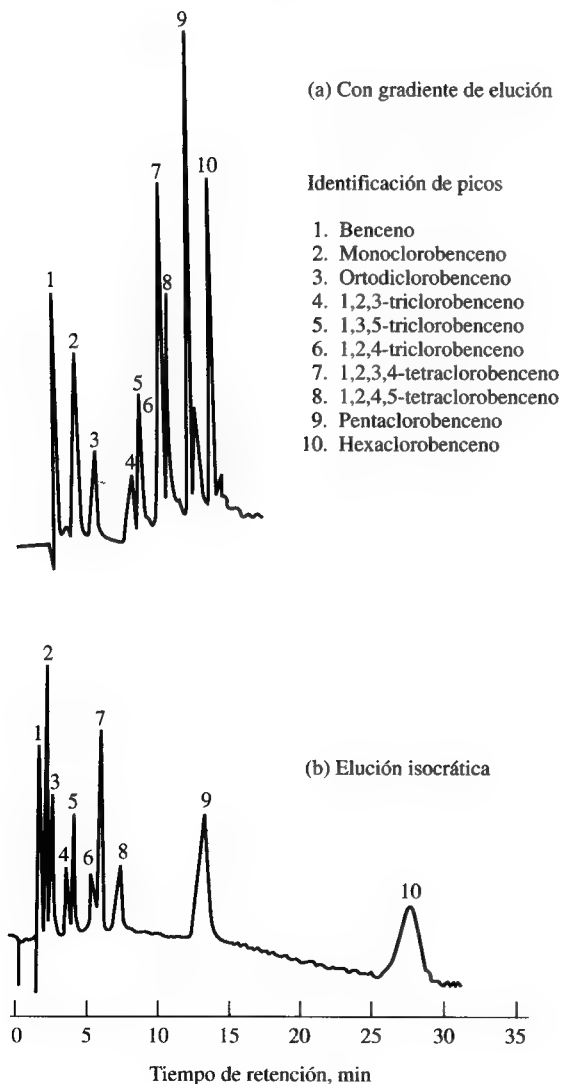


Figura 28-5. Mejora de la eficacia de la separación mediante la elución con gradiente. Columna: 1 m x 2,1 mm d.i., de acero inoxidable con calibre de precisión; relleno: 1 por 100 Permaphase[®] ODS. Muestra: 5 µL de bencenos clorados en isopropanol. Detector: fotómetro de UV (254 nm). Condiciones: temperatura, 60 °C, presión, 1.200 psi.

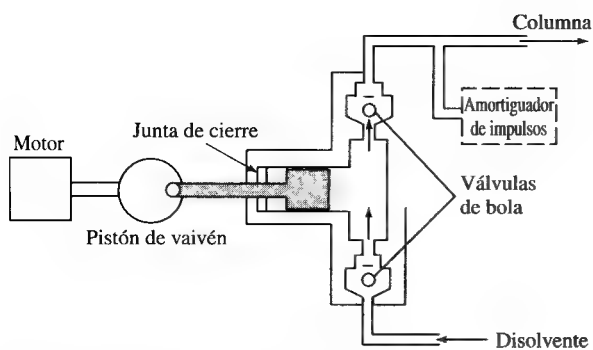


Figura 28-6. Bomba recíproca de HPLC.

producen un flujo pulsado, que se ha de amortiguar dado que su presencia se manifiesta como ruido en la línea base del cromatograma. Entre las ventajas de las bombas recíprocas se pueden citar su pequeño volumen interno (35 a 400 μL), sus altas presiones de salida (por encima de los 10.000 psi), su fácil adaptación a la elución con gradiente, y sus caudales constantes, que son prácticamente independientes de la contrapresión de la columna y de la viscosidad del disolvente.

Bombas de desplazamiento

Las bombas de desplazamiento consisten por lo general en unas grandes cámaras como una jeringa, equipadas con un émbolo que se activa por un mecanismo de tornillo accionado mediante un motor paso a paso. Las bombas de desplazamiento también producen un flujo que tiende a ser independiente de la viscosidad y de la contrapresión. Además, el flujo que resulta está libre de pulsaciones. Las desventajas incluyen una capacidad de disolvente limitada ($\approx 250 \text{ mL}$) y una notable incomodidad para el cambio de disolventes.

Bombas neumáticas

En las bombas neumáticas más simples, la fase móvil se encuentra en un recipiente plegable colocado en un vasija que puede presurizarse mediante gas comprimido. Las bombas de este tipo son baratas y están exentas de impulsos; aunque tienen una limitada capacidad y presión de salida, y además el caudal depende de la viscosidad del disolvente y de la contrapresión de la columna. Además, no son utilizables en la elución con gradiente y están limitadas a presiones menores de unos 2.000 psi.

Control del caudal y sistemas de programación

Como una parte de sus sistemas de bombeo, muchos instrumentos comerciales se equipan con dispositivos controlados por ordenador que permiten medir el caudal mediante la determinación de la caída de presión a través de un restrictor colocado en la salida de la bomba. Cualquier diferencia entre la señal y un valor preestablecido se utiliza para aumentar o disminuir la velocidad del motor de la bomba. La mayor parte de los instrumentos pueden variar la composición del disolvente bien sea de una forma continua o bien de forma escalonada. Por ejemplo, el instrumento que se ha mostrado en la Figura 28-4 contiene una válvula proporcional que permite mezclar hasta cuatro disolventes en una forma previamente programada y variable continuamente.

28C-3. Sistemas de inyección de muestra

A menudo, el factor limitante en la precisión de las medidas en cromatografía de líquidos es la reproducibilidad con que se puede introducir la muestra en la columna. El problema se acentúa por el ensanchamiento de banda que acompaña a la sobrecarga de las columnas. Por ello, los volúmenes que se emplean han de ser muy pequeños de unas pocas décimas de microlitro a tal vez 500 μL . Además, se ha de poder introducir la muestra sin despresurizar el sistema.

El medio más simple y antiguo para la introducción de las muestras implicaba la inyección con una jeringa a través de un elastómero (*septum*) que cierra herméticamente. Con esta finalidad se utilizaron microjeringas capaces de resistir presiones de hasta 1.500 psi. En las inyecciones a *flujo detenido*, el flujo del disolvente se detiene momentáneamente, se retira el conector de la cabeza de la columna y la muestra se inyecta directamente en el relleno de la cabeza de la columna después se retira el accesorio y el sistema se vuelve a presurizar. La ventaja de esta técnica es su sencillez. Desafortunadamente, la reproducibilidad de la inyección con jeringa rara vez es mejor de un 2 o un 3 por 100 y con frecuencia es considerablemente peor.

En cromatografía de líquidos el método más ampliamente utilizado para la introducción de la muestra utiliza bucles de muestra, como el que aparece en las Figuras 28-7 y 27-4. Estos dispositivos son normalmente una parte integrada del equi-

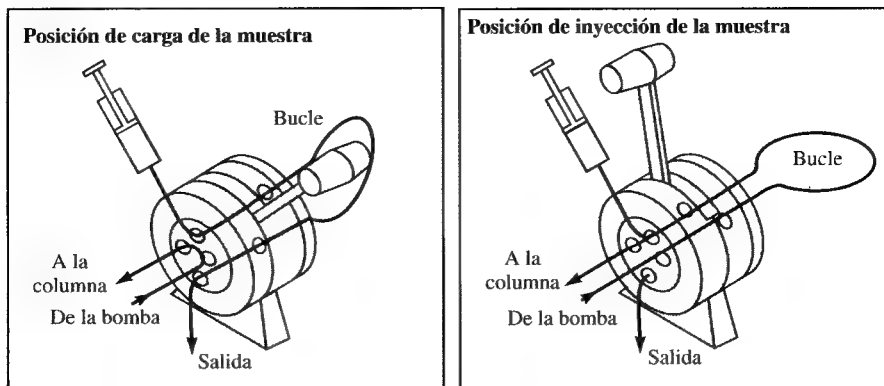


Figura 28-7. Bucle para la muestra para cromatografía de líquidos. Con la válvula en la posición que se muestra a la izquierda, la jeringa llena el bucle y la fase móvil pasa de la bomba a la columna. Cuando la válvula se coloca en la posición que se muestra a la derecha el bucle queda insertado entre la bomba y la columna, de tal modo que la fase móvil arrastra la muestra hacia la columna.

po cromatográfico y hay bucles intercambiables que permiten la elección de tamaños de muestra desde 5 a 500 μL . Con bucles de este tipo se puede introducir la muestra a presiones de hasta 7.000 psi con una precisión relativa de unas décimas por ciento. También existen válvulas de inyección de micromuestras, con bucles con volúmenes de 0,5 a 5 μL .

28C-4. Columnas para cromatografía de líquidos

Las columnas para cromatografía de líquidos se construyen de ordinario con tubo de acero inoxidable de diámetro interno uniforme, aunque en algunas ocasiones se encuentran tubos de vidrio de paredes resistentes. Estas últimas sólo se utilizan a presiones menores de unos 600 psi. Se comercializan por distintos fabricantes cientos de columnas rellenas que difieren en el tamaño y el relleno y su coste oscila, por lo general, de 200 \$ a 500 \$⁴.

Columnas analíticas

La mayoría de las columnas para cromatografía de líquidos tienen una longitud entre 10 y 30 cm. Por lo común, las columnas son rectas y se pueden alargar, si es necesario, acoplando dos o más columnas. En algunas ocasiones se pueden encontrar co-

lumnas configuradas con forma helicoidal aunque el resultado es una cierta pérdida de eficacia. El diámetro interno de las columnas es a menudo de 4 a 10 mm y los tamaños de las partículas de los rellenos más comunes son 5 o 10 μm . Tal vez la columna más frecuentemente utilizada es la de 25 cm de longitud y 4,6 mm de diámetro interno, y rellena con partículas de 5 μm . Este tipo de columnas tiene de 40.000 a 60.000 platos/metro.

Recientemente, se han empezado a fabricar columnas de alta eficacia, más rápidas, las cuales tienen menores dimensiones que las anteriormente descritas⁵. Estas columnas pueden tener diámetros internos que oscilan entre 1 y 4,6 mm y se rellenan con partículas de tamaño de 3 o 5 μm . A menudo su longitud es de 3 a 7,5 cm. Estas columnas tienen hasta 100.000 platos/metro y presentan la ventaja de la rapidez y del mínimo consumo de disolvente. La última propiedad es de considerable importancia, puesto que los disolventes de alta pureza que se requieren en cromatografía de líquidos son muy caros. La Figura 28-8 ilustra la rapidez con la que se puede realizar una separación con este tipo de columnas. Así, ocho componentes distintos se separan en unos 15 s. La columna es de 4 cm de longitud y un diámetro interno de 4 mm; está rellena con partículas de 3 μm .

⁴ Para una descripción de las columnas de HPLC de reciente comercialización, véase R. E. Majors, *LC-GC*, **1995**, 13(8), 202; **1994**, 12(12), 890.

⁵ Véase *Microcolumn High-Performance Liquid Chromatography*, P. Kucera, Ed. New York: Elsevier, 1984; *Small Bore Liquid Chromatography Columns: Their Properties and Uses*, R. P. W. Scott, Ed. New York: Wiley, 1984; M. Novotny, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, 500A.

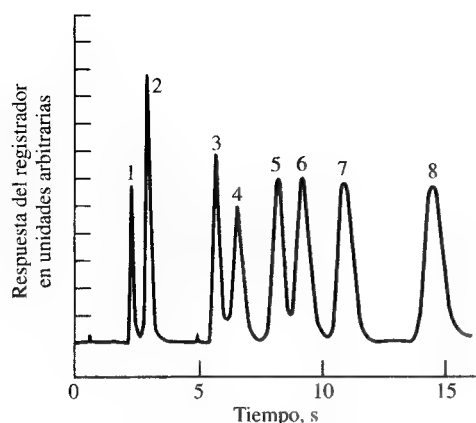


Figura 28-8. Separación isocrática de alta velocidad. Dimensiones de la columna: 4 cm de longitud; 0,4 cm de d.i.; relleno: *sperisorb* de 3 μm ; fase móvil: 4,1 por 100 de acetato de etilo en *n*-hexano. Compuestos: (1) *p*-xileno, (2) anisol, (3) acetato de bencilo, (4) ftalato de dioctilo, (5) ftalato de dipentilo, (6) ftalato de dibutilo, (7) ftalato de dipropilo, (8) ftalato de dietilo.

Precolumnas

En muchas ocasiones, para aumentar la vida de la columna analítica, se coloca delante una precolumna que elimina no sólo la materia en suspensión y los contaminantes de los disolventes sino también componentes de la muestra que se unen irreversiblemente a la fase estacionaria. Además, en cromatografía líquido-líquido, la precolumna sirve para saturar la fase móvil con la fase estacionaria y así minimizar las pérdidas de ésta en la columna analítica. La composición del relleno de la precolumna debería ser semejante al de la columna analítica; sin embargo, el tamaño de partícula es por lo común mayor para minimizar la caída de presión. Cuando la precolumna se contamina se vacía y se rellena de nuevo o se reemplaza por otra nueva del mismo tipo. Así, la precolumna se sacrifica para proteger a la columna analítica, más cara.

Columnas termostatzadas

En muchas aplicaciones no se necesita un control estricto de la temperatura, y las columnas trabajan a temperatura ambiente. Sin embargo, muchas veces si se controla la temperatura de la columna en unas pocas décimas de grado centígrado, se obtienen mejores cromatogramas. La mayoría de los instrumentos comerciales llevan actualmente hornos para las columnas que controlan la temperatura de la columna a las décimas de grado, desde la temperatura ambiente hasta 100 o 150 °C. Para poder

controlar con precisión la temperatura, las columnas también se pueden colocar en camisas con agua que provenga de un baño a temperatura constante.

28C-5. Tipos de rellenos de la columna

En cromatografía de líquidos se han utilizado dos tipos básicos de rellenos, *pelicular* y de *partícula porosa*. El primero consiste en bolas de vidrio o de polímero, no porosas y esféricas con unos diámetros característicos de 30 a 40 μm . En la superficie de estas bolas se deposita una capa delgada y porosa de sílice, alúmina, de una resina sintética de poliestireno-divinilbenceno o de una resina de intercambio iónico. Para algunas aplicaciones se aplica un recubrimiento adicional, constituido por una fase estacionaria líquida que se mantiene fija por adsorción. Las bolas también se pueden tratar químicamente para obtener una capa superficial orgánica. Por lo general, los rellenos peliculares se utilizan ampliamente en las precolumnas y no en las columnas analíticas.

Los típicos rellenos de partículas porosas para cromatografía de líquidos están formados por micropartículas porosas con diámetros entre 3 y 10 μm y con la menor dispersión posible con respecto a un tamaño determinado. Las partículas son de sílice, alúmina, de una resina sintética de poliestireno-divinilbenceno o resinas de intercambio iónico, aunque la sílice es el material de relleno más común en cromatografía de líquidos. Las partículas de sílice se preparan aglomerando partículas de sílice de tamaños inferiores al micrometro en unas condiciones tales que se forman partículas mayores con diámetros muy uniformes. Las partículas que resultan se recubren muchas veces con películas orgánicas, que se unen química o físicamente a la superficie.

28C-6. Detectores⁶

A diferencia de la cromatografía de gases, en la cromatografía de líquidos no hay detectores tan aplicables universalmente ni tan fiables como los detectores de ionización de llama y de conductivi-

⁶ Para una discusión más detallada de los detectores en la cromatografía de líquidos, véase R. P. W. Scott *Liquid Chromatographic Detectors*, 2.^a ed. Amsterdam: Elsevier, 1986; E. S. Yeung y R. E. Synovec, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 1237A; y C. A. Dorschel y col., *Anal. Chem.*, **1989**, 61, 951A.

TABLA 28-1. Características de los detectores de LC

Detector LC	Disponible comercialmente	LOD de masa (detectores comerciales) ^a	LOD de masa (estado actual) ^b
Absorbancia	Sí ^c	100 pg-1 ng	1 pg
Fluorescencia	Sí ^c	1-10 pg	10 fg
Electroquímica	Sí ^c	10 pg-1 ng	100 fg
Índice de refracción	Sí	100 ng-1 μ g	10 ng
Conductividad	Sí	500 pg-1 ng	500 pg
Espectrometría de masas	Sí ^d	100 pg-1 ng	1 pg
FT-IR	Sí	1 μ g	100 ng
Dispersión de la luz ^e	Sí	10 μ g	500 ng
Actividad óptica	No	—	1 ng
Selectivo de elementos	No	—	10 ng
Fotoionización	No	—	1 pg-1 ng

^a El LOD de masa se calcula para la masa inyectada que proporciona una señal igual a cinco veces la σ del ruido, empleando un compuesto de masa molecular 200 g/mol e inyectando 10 μ L en LC convencional y 1 μ L en LC microcapilar.

^b La misma definición que en *a*, pero el volumen inyectado es por lo general menor.

^c Disponible comercialmente también para LC microcapilar.

^d Disponible comercialmente, todavía muy caro.

^e Incluyendo la dispersión de la luz de ángulo bajo y la nefelometría.

(Reproducción autorizada de E. S. Yeung y R. E. Synovec, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 1238.)

dad térmica descritos en el Apartado 27B-4. Uno de los mayores retos en el desarrollo de la cromatografía de líquidos ha sido el perfeccionamiento de los detectores.

Características de un detector ideal

Un detector ideal para cromatografía de líquidos debería poseer todas las propiedades relacionadas en la página 765, para la cromatografía de gases, con la excepción de que un detector para cromatografía de líquidos no es necesario que sea sensible en un intervalo tan grande de temperaturas. Además, un detector de HPLC debe tener un volumen interno mínimo a fin de reducir el ensanchamiento de banda (Apartado 28B-2).

Tipos de detectores

Los detectores en cromatografía de líquidos son de dos tipos básicos. Los detectores que se basan en la medida de una *propiedad de la disolución* responden a una propiedad del efluente, tal como el índice de refracción, la constante dieléctrica, o la densidad, que se modifica por la presencia de los analitos. Por el contrario, los *detectores basados en una propiedad del soluto* responden a alguna de las

propiedades del soluto, como la absorbancia en el UV, fluorescencia, o corriente límite, que no son inherentes a la fase móvil.

En la Tabla 28-1 se indican los detectores más comunes empleados en HPLC y algunas de sus propiedades más importantes. Una revisión de 1982 sobre 365 artículos publicados en los que la cromatografía de líquidos tenía un papel importante, reveló que el 71 por 100 utilizaban la detección de la absorción UV, el 15 por 100 la fluorescencia, el 5,4 por 100 el índice de refracción, el 4,3 por 100 empleaba medidas electroquímicas y el 4,3 por 100 restante otras medidas⁷. De los detectores de absorción UV, el 39 por 100 utilizaban una de las líneas de emisión del mercurio, el 13 por 100 la radiación filtrada de una lámpara de deuterio y el 48 por 100 la radiación después de pasar por un monocromador de red.

Detectores de absorbancia

La Figura 28-9 muestra el esquema de una celda de flujo en forma de Z para las medidas de la absorbancia de los efluentes de una columna cromato-

⁷ Véase *Anal. Chem.*, **1982**, 54, 327A.

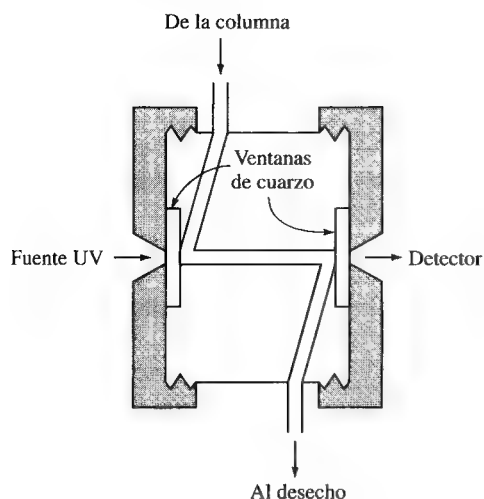


Figura 28-9. Celda del detector ultravioleta en HPLC.

gráfica. A fin de minimizar el ensanchamiento de banda extracolumna, el volumen de estas cubetas ha de ser lo menor posible, de modo que los volúmenes se limitan por lo común de 1 a 10 μL y las longitudes de la cubeta de 2 a 10 mm. La utilización de cubetas de este tipo está restringida, en la mayor parte de los casos, a presiones no mayores de unos 600 psi. En consecuencia, a menudo es necesario un dispositivo para reducir la presión.

Muchos detectores de absorbancia son dispositivos de doble haz, en los que uno de los haces pasa por la cubeta de flujo y el otro a través de un filtro que reduce su intensidad. Para comparar las intensidades de los dos haces se utilizan detectores fotoeléctricos contrastados. Alternativamente, en combinación con un solo fototubo se utiliza un sistema de corte haz semejante al mostrado en la Figura 9-13b. En cualquier caso, el cromatograma consiste en una representación del logaritmo del cociente de las dos señales detectadas en función del tiempo. También se utilizan instrumentos de un solo haz. En este caso, las medidas de intensidad del disolvente se almacenan en la memoria de un ordenador y al final se recuperan para el cálculo de la absorbancia.

Detectores de absorbancia ultravioleta con filtros. Los detectores de absorción UV más simples son los fotómetros de filtros con una lámpara de mercurio como fuente. Lo más común en estos casos es aislar la línea intensa a 254 nm por medio de filtros; en algunos equipos también se pueden utilizar las líneas a 250, 313, 334 y 365 nm em-

pleando otros filtros. Resulta obvio que este tipo de detector se utiliza de forma restringida para aquellos solutos que absorben a alguna de estas longitudes de onda. Como se ha indicado en el Apartado 14B, algunos grupos funcionales orgánicos y diversas especies inorgánicas exhiben bandas de absorción anchas a una o más de esas longitudes de onda.

Las fuentes de deuterio o de filamento de wolframio con filtros de interferencia también proporcionan una forma sencilla de detectar las especies absorbentes que eluyen de una columna. Algunos instrumentos modernos se equipan con discos porta-filtros que contienen varios filtros que pueden intercambiarse rápidamente para la detección de distintas especies a medida que eluyen. Estos dispositivos son especialmente útiles en la repetición de los análisis cuantitativos cuando se conoce la composición cualitativa de la muestra, de tal forma que se puede elegir una secuencia de filtros apropiados. En muchas ocasiones los cambios de filtro se controlan por ordenador.

Detectores de absorbancia ultravioleta con monocromadores. La mayoría de los fabricantes de instrumentos de HPLC ofrecen detectores que consisten en un espectrofotómetro de barrido con una red entre sus componentes ópticos. Algunos se limitan a la radiación ultravioleta; mientras que otros abarcan la radiación ultravioleta y la visible. Se pueden elegir varios modos operacionales. Por ejemplo, se puede obtener el cromatograma completo a una sola longitud de onda o alternativamente, cuando los picos que eluyen están suficientemente separados en el tiempo, se puede elegir distinta longitud de onda para cada pico. En este caso, debe emplearse el control por ordenador para seleccionar la mejor longitud de onda para cada compuesto eluido. Cuando se desean los espectros completos con fines de identificación, se puede parar el flujo del eluyente durante un tiempo suficiente que permita el barrido de longitudes de onda de la región de interés.

Los detectores espectrofotométricos de ultravioleta más potentes son los instrumentos de diodos en serie como los que se han descrito en el Apartado 7E-3 y en la Figura 13-22⁸. Algunos fa-

⁸ Véase J. C. Miller, S. O. George y B. G. Willis, *Science*, **1982**, 218, 241; S. A. Borman, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 836A. *Diode Array Detection in HPLC*, L. Huber y S. A. George, Eds., New York, Marcel Dekker, 1993.

bricantes ofrecen este tipo de instrumentos, que permiten recoger los datos de un espectro completo en aproximadamente un segundo. De esta forma, los datos espectrales para cada pico cromatográfico se pueden recoger y almacenar a medida que van saliendo de la columna. Una de las formas de presentación de los datos espectrales, que resulta útil para la identificación de las especies y para elegir las condiciones de la determinación cuantitativa, consiste en un gráfico tridimensional tal como el que se muestra en la Figura 28-10. En este caso, los espectros se obtuvieron a intervalos de cinco segundos. La aparición y desaparición de cada uno de los esteroides en el eluyente de la columna resulta evidente.

Detectores de absorbancia en el infrarrojo. Comercialmente se ofrecen dos tipos de detectores de absorbancia en el infrarrojo. El primero tiene un diseño semejante al del instrumento mostrado en la Figura 16-14, con barrido de longitud de onda que proporcionan tres filtros circulares variables. El intervalo de trabajo de este instrumento es de 2,5 a $14,5 \mu\text{m}$ o de 4.000 a 690 cm^{-1} .

El segundo, mucho más sofisticado, es un tipo de detector infrarrojo que se basa en los instrumentos de transformada de Fourier y es similar a los descritos en la Sección 16C-1. Varios fabricantes de instrumentos con transformada de Fourier ofrecen accesorios que permiten su uso como detectores en HPLC.

Las cubetas de los detectores del infrarrojo son semejantes a las de radiación ultravioleta excepto

en que las ventanas se construyen de cloruro de sodio o de fluoruro de calcio. Las longitudes de la cubeta oscilan de 0,2 a 1,0 mm, y los volúmenes de $1,5$ a $10 \mu\text{L}$.

Los instrumentos del infrarrojo más sencillos pueden trabajar a una o más longitudes de onda; alternativamente, se pueden obtener los espectros de los picos parando el flujo en su tiempo de elución. Los instrumentos con transformada de Fourier se utilizan de manera análoga a los instrumentos de diodos en serie para las medidas de absorbancia ultravioleta que se han descrito en el apartado anterior.

Una de las mayores limitaciones al uso de los detectores del infrarrojo se debe a la baja transparencia de muchos de los disolventes que se utilizan. Por ejemplo, las bandas anchas de absorción infrarrojo del agua y de los alcoholes impiden prácticamente el uso de este detector para muchas aplicaciones.

Detectores de fluorescencia

Los detectores de fluorescencia para HPLC son semejantes en diseño a los fluorómetros y espectrofluorímetros descritos en el Apartado 15B-2. En la mayoría de ellos, la fluorescencia se detecta por medio de un detector fotoeléctrico colocado perpendicularmente respecto al haz de excitación. Los detectores más sencillos utilizan una fuente de excitación de mercurio, y uno o más filtros para aislar la radiación emitida. Los instrumentos más sofisti-

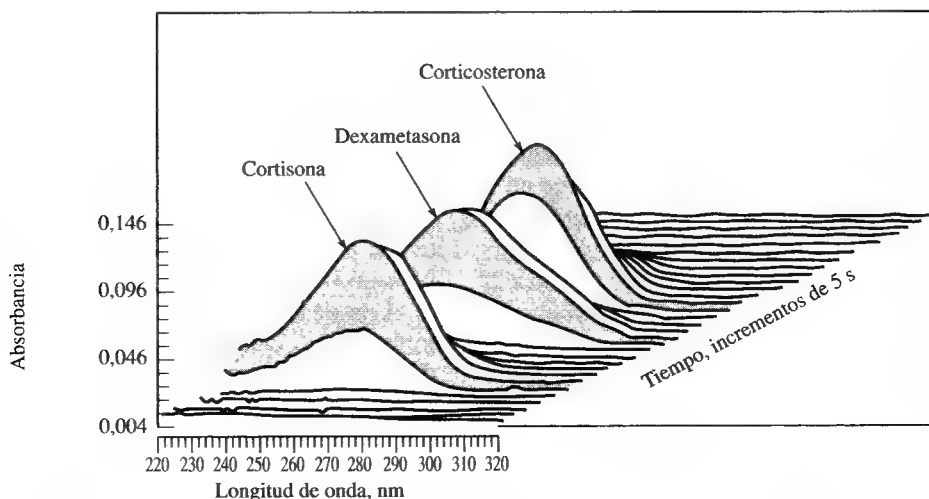


Figura 28-10. Espectros de absorción del efluente de la columna tomados a intervalos de 5 segundos, para una mezcla de tres esteroides.

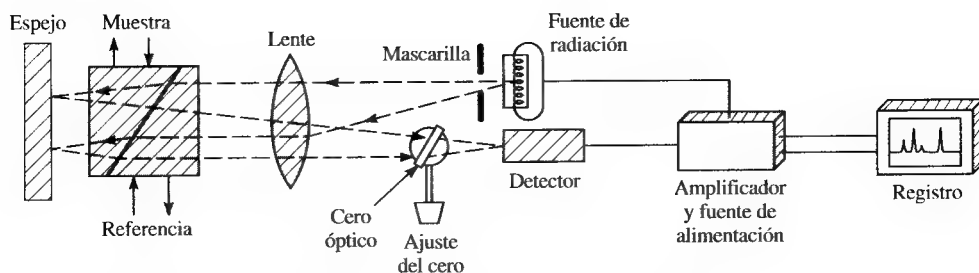


Figura 28-11. Esquema de un detector diferencial de índice de refracción.

cados consisten en una fuente de radiación de xenón y emplean un monocromador de red para aislar la radiación fluorescente. Los futuros desarrollos en los detectores de fluorescencia probablemente se basarán en el uso de fuentes de láser sintonizables, las cuales permitirán una mayor sensibilidad y selectividad⁹.

Como se ha subrayado en el Capítulo 15, una ventaja inherente a los métodos de fluorescencia es su alta sensibilidad, que resulta ser más de un orden de magnitud mayor que la de los sistemas de absorbancia. En cromatografía de líquidos se ha aprovechado esta ventaja para la separación y determinación de los componentes fluorescentes de las muestras. Tal como se ha descrito en el Apartado 15C-2, los compuestos fluorescentes están con frecuencia relacionados con el análisis de materiales de interés farmacéutico, clínico, productos naturales y del petróleo. Muchas veces, el número de especies fluorescentes puede aumentarse mediante tratamientos previos de las muestras con reactivos que originan derivados fluorescentes. Por ejemplo, el cloruro de dansilo (cloruro de 5-dimetilaminonaftaleno-1-sulfonilo), que reacciona con las aminas primarias y secundarias, aminoácidos y fenoles para dar compuestos fluorescentes, se ha utilizado ampliamente para la detección de aminoácidos en los hidrolizados de proteínas.

Detectores de índice de refracción

La Figura 28-11 muestra el esquema de un detector diferencial de índice de refracción, en el que el disolvente en su camino hacia la columna pasa a través de una mitad de la cubeta y el eluyente de la columna pasa por la otra mitad. Los dos compartimentos están separados por una placa de vidrio

montada a un ángulo tal que si las dos disoluciones difieren en el índice de refracción se produce una desviación del haz incidente. El desplazamiento resultante del haz con respecto a la superficie fotosensible del detector provoca una variación de la señal de salida, la cual, una vez amplificada y registrada, proporciona el cromatograma.

Los detectores de índice de refracción tienen la ventaja de que responden a casi todos los solutos. Es decir, son detectores universales análogos a los detectores de llama o de conductividad térmica en cromatografía de gases. Además, son fiables y no dependen del caudal. Sin embargo, son muy sensibles a los cambios de temperatura, y se han de mantener a una temperatura constante en unas pocas milésimas de grado centígrado. Por otra parte, no son tan sensibles como la mayoría de los otros detectores.

Detector de luz dispersada tras evaporación

Recientemente, se ha comercializado un nuevo tipo de detector general para HPLC, el detector de luz dispersada tras evaporación (ELSD). En este detector, el efluente de la columna se pasa a un nebulizador donde se convierte en una fina niebla mediante un flujo de nitrógeno o aire. Las finas gotitas se llevan a través de un tubo por el que pasa la corriente del gas a temperatura controlada donde tiene lugar la evaporación de la fase móvil, lo que origina unas finas partículas de analito. La nube de partículas de analito pasa a través de un haz láser. La radiación dispersada se detecta perpendicularmente al flujo mediante un fotodiodo de silicio.

Una de las mayores ventajas de este tipo de detector es que su respuesta resulta ser aproximadamente la misma para todos los solutos no volátiles. Además, es notablemente más sensible que el detector de índice de refracción, ya que se han establecido unos límites de detección de 5 ng/25 μ L.

⁹ Véase R. B. Green, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 20A; E. S. Yeung y M. J. Sepaniak, *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 1465A.

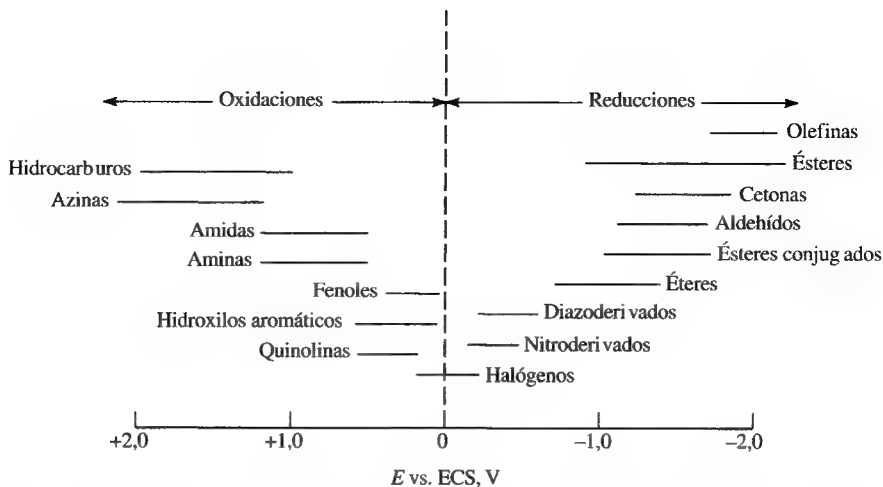


Figura 28-12. Grupos funcionales orgánicos detectables potencialmente por medidas amperométricas. Las líneas horizontales indican el intervalo de los potenciales de oxidación o de reducción donde son electroactivos los compuestos que contienen los grupos funcionales señalados.

Detectores electroquímicos¹⁰

Los fabricantes de instrumentos proporcionan en la actualidad varios tipos de detectores electroquímicos¹¹. Estos dispositivos se basan en la amperometría, la voltamperometría, la coulombimetría y la conductimetría. Los tres primeros métodos se discuten en los Capítulos 24 y 25.

Aunque los procedimientos electroanalíticos no se han explotado todavía tanto como los detectores ópticos, en muchos casos parecen ofrecer las ventajas de una elevada sensibilidad, sencillez, adecuación y una extensa aplicabilidad. Esta última propiedad se ilustra en la Figura 28-12, en la que se muestran los intervalos de potencial en los que puede tener lugar la oxidación o reducción de 16 grupos funcionales orgánicos. En principio, pues, las especies que contienen alguno de esos grupos podrían detectarse por procedimientos amperométricos, voltamperométricos o coulombimétricos. Por tanto, la detección electroquímica parece poder cubrir una necesidad que largo tiempo ha

tenido la HPLC, que es la de disponer de un detector general o universal sensible¹².

En la literatura se han descrito una gran variedad de celdas para la detección electroquímica en HPLC, algunas de las cuales ya están comercializadas. La Figura 28-13 es un ejemplo de una sencilla celda de flujo del tipo capa fina para la detección amperométrica. En este caso, la superficie del electrodo forma parte de un canal formado al insertar una junta de teflón de 50 μm entre dos bloques moldeados de plástico de Kel-F. El electrodo indicador es de platino, oro, carbón vítreo, o de pasta de carbono. El electrodo de referencia y a menudo el contraelectrodo se colocan más adelante en el canal de flujo, después del bloque en el que se encuentra el electrodo indicador. El volumen de la celda es de 1 a 5 μL . Una modificación útil de esta celda, disponible ya comercialmente, incluye dos electrodos de trabajo, los cuales pueden operar en serie o en paralelo¹³. La primera configuración, en la que el efluente de la columna pasa primero por un electrodo y luego por el segundo, requiere que el analito experimente una oxidación reversible (o reducción) en el primero de los electrodos. A continuación, el segundo electrodo actúa como cátodo (o ánodo) para determinar el producto de la oxida-

¹⁰ Para una pequeña revisión de los detectores electroquímicos, véase P. T. Kissinger, *J. Chem. Educ.*, **1983**, 60, 308; R. D. Rocklin, A. Henshall y R. B. Rubin, *Amer. Lab.*, **1990** (3), 34; G. Horvai y E. Pungor, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **1989**, 21(1), 1; G. Horvai y E. Pungor, *Chromatography*, **1987**, 2(3), 15; D. C. Johnson, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 589A.

¹¹ Para una descripción de los nueve detectores electroquímicos comercialmente disponibles, véase M. Warner, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 601A.

¹² Para una descripción reciente del empleo de la detección voltamétrica de una gran cantidad de grupos funcionales orgánicos con microelectrodos de oro o platino, véase D. C. Johnson y W. R. LaCourse, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 589A.

¹³ D. A. Roston, R. E. Shoup y P. T. Kissinger, *Anal. Chem.*, **1982**, 54, 1417A.

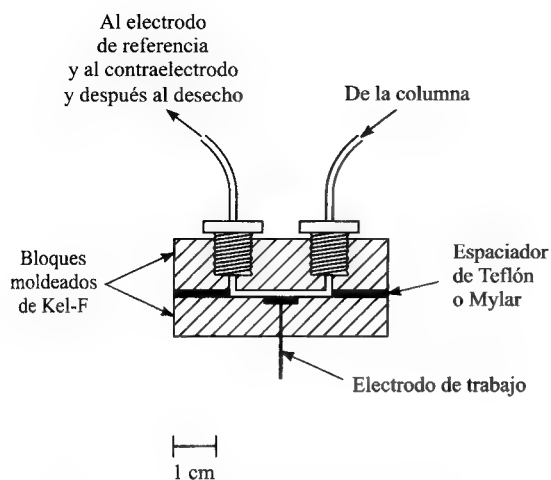


Figura 28-13. Celda del detector amperométrico de capa fina en HPLC.

ción (o reducción). Esta configuración aumenta la selectividad del sistema de detección. Una aplicación interesante de este sistema es la detección y determinación de los componentes en mezclas que contienen tanto tioles como disulfuros. En este caso, el primer electrodo de mercurio con el que se encuentra el efluente, reduce los disulfuros a aproximadamente $-1,0$ V. Es decir,



El segundo electrodo de mercurio ubicado más adelante se oxida por la presencia de los tioles que proceden de la muestra original y también de aquellos que se han formado en el electrodo anterior. Esto es,



En la configuración en paralelo, los electrodos están situados de tal modo que el eje entre ellos es de 90 grados con respecto al flujo. Los dos pueden entonces operar a potenciales distintos (en relación con el electrodo de referencia que se encuentra más adelante), lo que muchas veces da una indicación de la pureza de pico. Alternativamente, un electrodo puede actuar como cátodo y el otro como ánodo, haciendo así posible la detección simultánea tanto de oxidantes como de reductores.

En la literatura también se han descrito detectores polarográficos. Por ejemplo, existe un accesorio para el electrodo de gotas de mercurio controlado mecánicamente que se ha mostrado en la Figura

25-3d; este dispositivo dirige el flujo del eluyente alrededor de la gota de mercurio¹⁴. Durante la elución el potencial del electrodo se mantiene a un valor adecuado. La representación de la intensidad frente al tiempo proporciona una guía para la elución de las especies que se reducen al potencial elegido.

Los detectores conductimétricos y culométricos¹⁵ también se han comercializado; los primeros se tratan en el Apartado 28F-3.

Detección por espectrometría de masas

Un problema fundamental del acoplamiento de la cromatografía de líquidos con la espectrometría de masas es el enorme contraste que existe entre los volúmenes relativamente grandes de disolvente de la primera y los requerimientos de vacío de la última. Para resolver este problema se han desarrollado diversas interfases¹⁶. En una de ellas, que está comercializada, el efluente de la columna se divide, y sólo una minúscula fracción se introduce directamente en el espectrómetro de masas. Los sistemas de introducción directa de líquido parecen tener un futuro prometedor cuando se utilizan combinados con las columnas microcapilares, las cuales tienen unos caudales característicos de 10 a 50 $\mu\text{L}/\text{min}$. En un segundo tipo de interfase, que también se puede adquirir en el comercio, el efluente de la columna se deposita sobre una cinta o alambre que se mueve continuamente y que transporta el disolvente y el analito hacia una cámara calorífica para la eliminación del primero por volatilización. Tras la evaporación del disolvente, los residuos del analito sobre la cinta o el alambre pasan a la zona de la fuente de ionización, donde tiene lugar la desorción-ionización.

¹⁴ Para más detalles, véase S. K. Vohra, *Amer. Lab.*, **1981**, 13(5), 66.

¹⁵ Para una descripción de los detectores culométricos en serie y en paralelo, véase R. W. Andrews y col., *Amer. Lab.*, **1982**, 14(10), 140.

¹⁶ Véase A. L. Yergey, C. G. Edmonds, I. A. S. Lewis y M. L. Vestal, *Liquid Chromatography/Mass Spectrometry Techniques and Applications*. New York: Plenum Press, 1990; *Liquid Chromatography/Mass Spectrometry Applications in Agricultural, Pharmaceutical, and Environmental Chemistry*, M. A. Brown, Ed. Washington, DC: American Chemical Society, 1990; T. R. Covey, E. D. Lee, A. P. Bruins y J. D. Henion, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 1451A; M. L. Vestal, *Science*, **1984**, 226, 275. Véase también *Spectra* **1983** (9)1. El número completo de esta publicación de Finnigan MAT está dedicado a las interfases LC/MS.

Una nueva y prometedora interfase, también comercializada, se denomina *termovaporizador*¹⁷. Una interfase de termovaporización permite la introducción directa de todo el efluente de una columna con caudales de hasta 2 mL/min. Con esta interfase, el líquido se vaporiza al pasar por un tubo capilar de acero inoxidable calentado y se forma un chorro de aerosol constituido por las moléculas del disolvente y del analito. En el aerosol, el analito se ioniza por un mecanismo de intercambio de carga con una sal, como el acetato de amonio, que se incorpora al eluyente. Así, el termovaporizador no sólo es una interfase, sino también una fuente de ionización. Los espectros que resultan son por lo general simples, y proporcionan los datos de la masa molecular, pero falta el detalle que se tiene con los espectros de impacto electrónico que resulta de gran utilidad para la identificación de los analitos. Por otra parte, la interfase de termovaporización sólo se puede aplicar a moléculas de analitos polares y a fases móviles polares que disuelven bien sales como el acetato de amonio. Con estas limitaciones, la interfase de termovaporización proporciona espectros para una amplia gama de compuestos termoestables y no volátiles como los péptidos y los nucleótidos. Se han encontrado límites de detección por debajo de 1 a 10 picogramos.

Recientemente, se ha introducido en el mercado una nueva interfase que permite obtener espectros tanto de impacto electrónico como de ionización química. En este dispositivo, la nebulización térmica y la desolvatación ocurren simultáneamente y producen una mezcla de partículas del soluto en suspensión y moléculas gaseosas de la fase móvil. Este aerosol se acelera a través de una boquilla de inyección hacia una zona de vacío donde las moléculas de la fase móvil se bombean hacia el exterior. En este caso, la separación se consigue mediante un separador de momentos lineales semejante al que se muestra en la Figura 27-14. Las moléculas del analito en suspensión se ionizan luego con un haz de electrones o químicamente¹⁸.

Con los detectores de espectrometría de masas, en general, se emplea el control y el almacenamiento de datos por ordenador. Se pueden obtener tanto los cromatogramas en tiempo real como los reconstruidos por ordenador, y también los espectros de los picos eluidos. Hasta ahora, los instrumentos

para HPLC/MS no están tan desarrollados como los instrumentos para GC/MS; pero parece probable que esta situación cambie en los próximos años¹⁹.

28D. CROMATOGRAFÍA DE REPARTO

La cromatografía de reparto ha llegado a ser el tipo de cromatografía de líquidos más ampliamente utilizado de las cuatro modalidades de cromatografía de líquidos. En el pasado, la mayoría de las aplicaciones se han referido a compuestos polares, no iónicos, de baja a moderada masa molecular (habitualmente <3.000). Sin embargo, recientemente se han desarrollado algunos métodos (derivatización y formación de pares iónicos) que han extendido las separaciones de reparto a los compuestos iónicos.

La cromatografía de reparto se puede subdividir en cromatografía *líquido-líquido* y cromatografía de *fase unida químicamente*. La diferencia entre estas técnicas radica en la forma en que se retiene la fase estacionaria sobre las partículas soporte del relleno. En líquido-líquido, la fase estacionaria líquida se retiene sobre la superficie del soporte por adsorción física. En fase unida químicamente, la fase estacionaria se une químicamente a la superficie del soporte. La cromatografía de reparto, al principio era exclusivamente del tipo líquido-líquido; sin embargo, en la actualidad los métodos de fase unida químicamente son los que predominan debido a las desventajas de los sistemas líquido-líquido. Una de esas desventajas es la pérdida de fase estacionaria por disolución en la fase móvil, lo que hace necesario un periódico recubrimiento de las partículas del soporte. Por otra parte, el problema de la solubilidad de la fase estacionaria impide el uso de los rellenos de fase líquida en la elución con gradiente. La discusión se centrará exclusivamente en la cromatografía de reparto con fases unidas químicamente²⁰.

28D-1. Columnas para cromatografía de fase unida químicamente

En cromatografía de reparto, los soportes para casi todos los rellenos de fases unidas químicamente

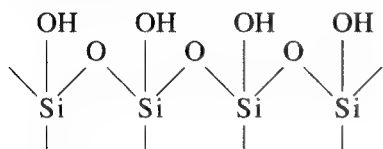
¹⁷ M. L. Vestal, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 750, 1741.

¹⁸ Véase R. C. Willoughby y R. F. Browner, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, 2626.

¹⁹ Véase S. Borman, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 769A.

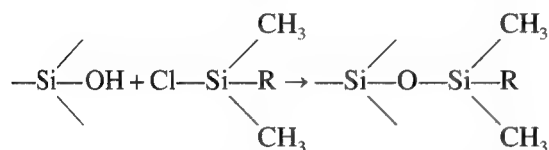
²⁰ Para informarse sobre los mecanismos de retención en cromatografía de fase unida químicamente, véase J. G. Dorsey y W. T. Cooper, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 857A.

se preparan con sílice rígida o composiciones constituidas básicamente por sílice. Estos sólidos están formados por partículas mecánicamente resistentes, porosas y uniformes, con diámetros de 3, 5 o 10 μm . La superficie de la sílice totalmente hidrolizada (hidrolizada por calentamiento con HCl 0,1 M durante uno o dos días) está constituida por grupos silanol químicamente reactivos. Es decir,



Las superficies de sílice características contienen cerca de 8 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ de grupos OH.

Los recubrimientos de fase unida químicamente más utilizados son los siloxanos, que se forman por reacción de la superficie hidrolizada con un organoclorosilano. Por ejemplo,



donde R es un grupo alquilo o un grupo alquilo sustituido.

El recubrimiento de la superficie por sililación se limita a 4 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ o menos a causa de los efectos estéricos. Los grupos SiOH que no han reaccionado, desafortunadamente proporcionan una polaridad indeseable a la superficie, lo que origina picos cromatográficos con cola en especial con los solutos básicos. Para reducir este efecto, los rellenos de siloxano muchas veces se desactivan por un *proceso de bloqueo* mediante reacción con clorotrimetilsilano, el cual, debido a su pequeño tamaño, puede unirse químicamente a muchos de los grupos silanol que no habían reaccionado.

Rellenos de fase normal y de fase inversa

En relación con las polaridades relativas de las fases móvil y estacionaria, se distinguen dos tipos de cromatografía de reparto. Inicialmente, la cromatografía de líquidos utilizaba fases estacionarias de elevada polaridad tales como el agua o el trietilen-glicol soportadas sobre partículas de sílice o alúmina; y como fase móvil se empleaba un disolvente relativamente apolar como el hexano o el *iso*-pro-

pileter. Por razones históricas, a este tipo de cromatografía se le conoce ahora como *cromatografía en fase normal*. En la *cromatografía en fase inversa*, la fase estacionaria es no polar, con frecuencia se trata de un hidrocarburo, y la fase móvil es relativamente polar (como el agua, el metanol o el acetonitrilo)²¹. En cromatografía en fase normal, el componente *menos* polar se eluye primero, debido a que relativamente es el más soluble en la fase móvil y un *aumento* de la polaridad de la fase móvil provoca una *disminución* del tiempo de elución. Por contraste, en los métodos en fase inversa, los componentes *más* polares aparecen primero, y un *aumento* de la polaridad de la fase móvil *aumenta* el tiempo de elución. Estas correlaciones se ilustran en la Figura 28-14.

Los rellenos de fase unida químicamente se clasifican como de fase inversa cuando el recubrimiento enlazado tiene un carácter no polar, y de fase normal cuando el recubrimiento contiene grupos funcionales polares. Tal vez las tres cuartas partes de toda la cromatografía de líquidos de alta eficacia se llevan a cabo actualmente en columnas con rellenos de fase inversa. Por lo general, el grupo R del siloxano en estos recubrimientos es una cadena C_8 (*n*-octilo) o una cadena C_{18} (*n*-octadecilo). En estas fases, los grupos de hidrocarburo de cadena larga se alinean el uno junto al otro y en perpendicular a la superficie de la partícula, dando una estructura semejante a una brocha o a un cepillo. Hasta el momento no está completamente esclarecido el mecanismo por el cual estas superficies retienen a los solutos. Algunos científicos creen que desde el punto de vista de las moléculas del soluto, la estructura de brocha se comporta como un medio líquido hidrocarbonado de naturaleza similar a una fase estacionaria de líquido-líquido ordinaria. Otros prefieren ver en el recubrimiento en forma de brocha una superficie modificada en la que tiene lugar una adsorción física. Las moléculas de la fase móvil compiten entonces con las del analito por una posición en la superficie orgánica. Sin considerar detalladamente el mecanismo de la retención, un recubrimiento enlazado se puede tratar como si fuera un líquido convencional retenido físicamente.

La Figura 28-15 ilustra el efecto de la longitud de la cadena del grupo alquilo sobre la eficacia.

²¹ Para una monografía sobre cromatografía en fase inversa, véase A. M. Krstulovic y P. R. Brown, *Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography*. New York: Wiley, 1982.

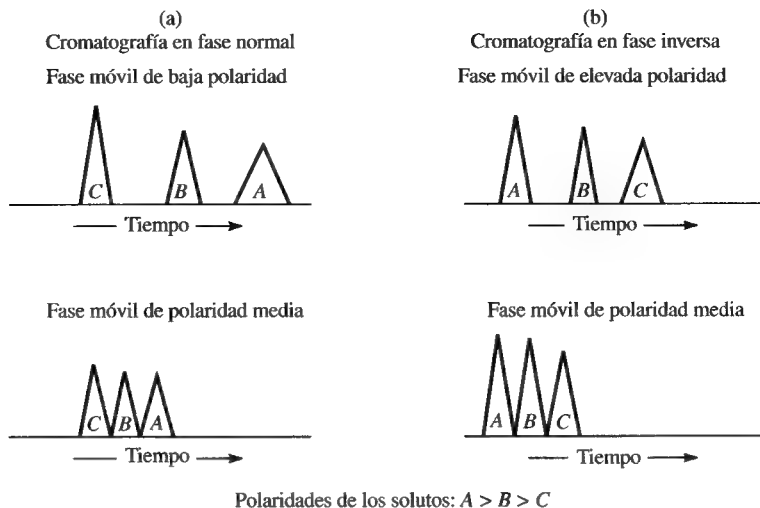


Figura 28-14. Relación entre la polaridad y los tiempos de elución en cromatografía en fase normal y en fase inversa.

Como era de esperar, las cadenas más largas originan rellenos que muestran una mayor retención. Además, una mayor longitud de la cadena permite una mayor cantidad de muestra. Por ejemplo, el tamaño máximo de muestra para un relleno de C_{18} es casi el doble que para uno de C_4 en condiciones similares.

En la mayoría de las aplicaciones de la cromatografía en fase inversa, la elución se lleva a cabo con una fase móvil de elevada polaridad como es el caso de una disolución acuosa conteniendo concentraciones diversas de disolventes como meta-

nol, acetonitrilo o tetrahidrofurano. De este modo, se ha de poner especial cuidado en que el valor del pH no sea mayor que, aproximadamente, 7,5 porque si no puede tener lugar la hidrólisis del siloxano, lo que originaría la degradación o destrucción del relleno.

Con rellenos comerciales de fase normal unida químicamente, R en la estructura del siloxano es un grupo funcional polar como es el caso de los grupos ciano ($-\text{C}_2\text{H}_4\text{CN}$), diol ($-\text{C}_3\text{H}_6\text{OCH}_2\text{CHOHCH}_2\text{OH}$), amino ($-\text{C}_3\text{H}_6\text{NH}_2$) y los dimetilaminopropil ($\text{C}_3\text{H}_6\text{N}(\text{CH}_3)_2$). Las pola-

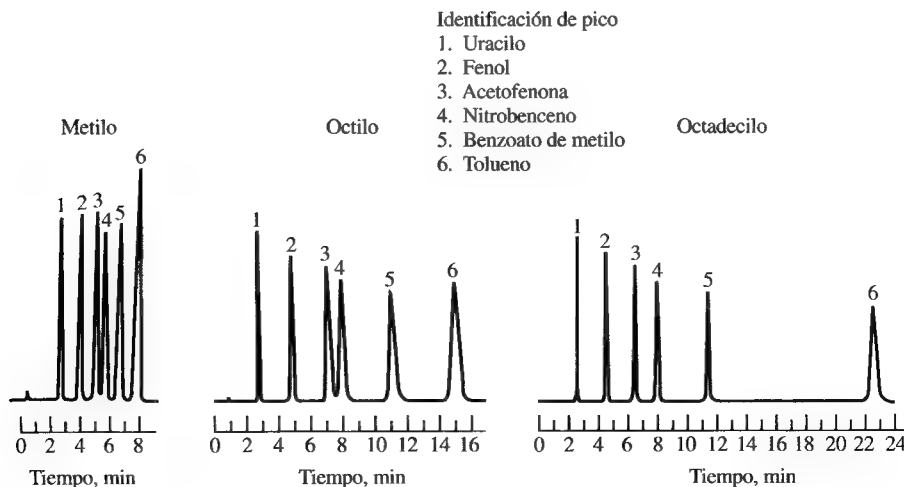


Figura 28-15. Efecto de la longitud de la cadena en la eficacia de las columnas de siloxano en fase inversa rellenas con partículas de $5\ \mu\text{m}$. Fase móvil: 50/50 metanol/agua. Caudal: 1,0 mL/min.

ridades de estos materiales de relleno varían en un gran intervalo, siendo el tipo ciano el menos polar y el tipo amino el más polar. Los rellenos de diol son de una polaridad intermedia. Con los rellenos de fase normal, la elución se realiza con disolventes relativamente no polares, tales como el etiléter, el cloroformo y el *n*-hexano.

28D-2. Establecimiento del método en cromatografía de reparto

En cromatografía de líquidos, el establecimiento del método tiende a ser más complejo que en cromatografía de gases, debido a que cuando la fase móvil es líquida, los componentes de la muestra interactúan con *ambas* fases, la estacionaria y la móvil. Por el contrario, en la cromatografía de gases, la fase móvil se comporta como un gas ideal y no contribuye al proceso de separación; sólo sirve como portador de los componentes de la muestra a través de la fase estacionaria. Es decir, en cromatografía de gases, el que la fase móvil sea helio, nitrógeno o hidrógeno no afecta significativamente a la separación. Muy al contrario, el éxito de una separación en cromatografía de reparto depende crucialmente de que la fase móvil sea acetonitrilo, hexano o dioxano.

Selección de la columna en las separaciones por cromatografía de reparto

Una cromatografía exitosa con fases móviles interactivas, requiere un equilibrio adecuado entre las fuerzas intermoleculares existentes entre los *tres* participantes activos en el proceso de la separación—el soluto, la fase móvil y la fase estacionaria—. Estas fuerzas intermoleculares se describen cualitativamente en términos de polaridad relativa de cada uno de los tres reactivos. Las polaridades en orden creciente para varios grupos funcionales del analito son: hidrocarburos < éteres < ésteres < cetonas < aldehídos < amidas < aminas < alcoholes. El agua es más polar que cualquier compuesto que contenga alguno de los anteriores grupos funcionales.

Al elegir una columna para una separación por cromatografía de reparto, la polaridad de la fase estacionaria ha de ser bastante similar a la de los analitos, y para la elución se utiliza entonces una fase móvil con una polaridad considerablemente distinta. Este procedimiento por lo general resulta

más adecuado que si las polaridades del soluto y de la fase móvil son parecidas pero difieren mucho con respecto a la fase estacionaria. En este caso, la fase estacionaria, a menudo, no puede competir de forma efectiva por los componentes de la muestra, y los tiempos de retención se hacen demasiado cortos para las aplicaciones prácticas. En el otro extremo, por supuesto, se encuentra el caso de que las polaridades del soluto y de la fase estacionaria sean demasiado parecidas y totalmente distintas de las de la fase móvil; en estas circunstancias, los tiempos de retención se hacen excesivamente largos.

En resumen pues, si se quieren obtener buenas separaciones con cromatografía de reparto en un tiempo razonable, las polaridades del soluto, de la fase móvil y de la fase estacionaria se han de armonizar cuidadosamente. Por desgracia, las teorías que relacionan las interacciones de la fase móvil y la fase, estacionaria con una serie determinada de componentes de una muestra son imperfectas, y en el mejor de los casos, un científico sólo puede elegir la fase estacionaria de una manera general. Una vez hecha la elección, el científico ha de realizar una serie de ensayos tentativos obteniendo los cromatogramas con varias fases móviles hasta que se llega a una separación satisfactoria. Si la resolución de todos los componentes de la mezcla resulta imposible, se ha de elegir otro tipo de columna.

Selección de la fase móvil en la cromatografía de reparto²²

En el Apartado 26D-4 se han descrito tres métodos para mejorar la resolución de una columna cromatográfica; cada uno de los cuales se basa en la variación de uno de los tres parámetros (*N*, *k'* y α) que relaciona la Ecuación 26-21. En cromatografía de líquidos, el factor de retención, *k'* es de los tres el que más fácilmente se puede manipular experimentalmente, debido a que este parámetro depende considerablemente de la composición de la fase móvil. Tal como se ha subrayado anteriormente, para una eficacia óptima, *k'* debería estar en el intervalo comprendido entre 2 y 5; sin embargo, para mezclas complejas, este intervalo se ha de extender

²² Para una excelente monografía que trata de los métodos sistemáticos para seleccionar combinaciones de fases estacionaria y móvil que permitan distintos tipos de separaciones, véase L. R. Snyder, J. L. Glajch y J. J. Kirkland, *Practical HPLC Method Development*. New York: Wiley, 1988.

TABLA 28-2. Propiedades de las fases móviles cromatográficas más comunes

Disolvente	Índice de refracción ^a	Viscosidad, cP ^b	Punto de ebullición, °C	Índice de polaridad, P'	Fuerza eluyente ^c , ϵ^0
Fluoroalcanos ^d	1,27-1,29	0,4-2,6	50-174	< -2	-0,25
Ciclohexano	1,423	0,90	81	0,04	-0,2
<i>n</i> -Hexano	1,372	0,30	69	0,1	0,01
1-Clorobutano	1,400	0,42	78	1,0	0,26
Tetracloruro de carbono	1,457	0,90	77	1,6	0,18
<i>iso</i> -Propileter	1,365	0,38	68	2,4	0,28
Tolueno	1,494	0,55	110	2,4	0,29
Dietileter	1,350	0,24	35	2,8	0,38
Tetrahidrofurano	1,405	0,46	66	4,0	0,57
Cloroformo	1,443	0,53	61	4,1	0,40
Etanol	1,359	1,08	78	4,3	0,88
Acetato de etilo	1,370	0,43	77	4,4	0,58
Dioxano	1,420	1,2	101	4,8	0,56
Metanol	1,326	0,54	65	5,1	0,95
Acetonitrilo	1,341	0,34	82	5,8	0,65
Nitrometano	1,380	0,61	101	6,0	0,64
Etilenglicol	1,431	16,5	182	6,9	1,11
Agua	1,333	0,89	100	10,2	Grande

^a A 25 °C.^b El centipoise es una unidad típica de viscosidad; en unidades del SI, 1 cP = 1 mN · s · m⁻².^c En Al₂O₃. Multiplicando por 0,8 se obtiene el ϵ^0 para la SiO₂.^d Las propiedades dependen de la masa molecular. Se da un intervalo de datos.

tal vez de 0,5 a 20 para que todos los picos de los componentes tengan tiempo de aparecer.

En algunas ocasiones, el ajuste de k' solamente no es suficiente para obtener picos individuales sin superposición y entonces se ha de recurrir a la variación de los factores de selectividad α . De nuevo en este caso, la forma más simple de producir variaciones en α es modificando la composición de la fase móvil, procurando sin embargo, mantener k' dentro de un intervalo razonable. Alternativamente, se puede cambiar α eligiendo un relleno de columna distinto.

Influencia de la fuerza del disolvente sobre los factores de retención. Los disolventes que interaccionan fuertemente con los solutos a menudo se les denomina disolventes «fuertes» o disolventes polares. Se han desarrollado varios índices para describir cuantitativamente la polaridad de los di-

solventes. El más útil para la cromatografía de reparto parece ser el *índice de polaridad P'* , desarrollado por Synder²³. Este parámetro se basa en las medidas de la solubilidad para la sustancia en cuestión en tres disolventes: dioxano (un aceptor de protones de dipolo débil), nitrometano (un aceptor de protones de dipolo intenso) y etanol (un donador de protones de dipolo intenso). El índice de polaridad es una medida numérica de la polaridad relativa de varios disolventes. La Tabla 28-2 da una relación de los índices de polaridad (y otras propiedades) para varios disolventes que se utilizan en cromatografía de reparto. Obsérvese que el índice de polaridad varía de 10,2 para un compuesto muy polar como el agua hasta -2 para los fluoroalcanos muy poco polares. Cualquier índice de polaridad que se desee entre esos límites se puede conseguir

²³ L. R. Snyder, *J. Chromatogr. Sci.*, 1978, 16, 223.

por mezcla de dos disolventes adecuados. De este modo, el índice de polaridad P'_{AB} de una mezcla de disolventes A y B viene dado por

$$P'_{AB} = \phi_A P'_A + \phi_B P'_B \quad (28-2)$$

donde P'_A y P'_B son los índices de polaridad de los dos disolventes, y ϕ_A y ϕ_B son las fracciones de volumen de cada uno.

En el Apartado 26D-4, se ha subrayado que la forma más fácil de mejorar la resolución cromatográfica de dos especies es manipulando el factor de retención k' , el cual puede a su vez modificarse cambiando el índice de polaridad del disolvente. En este caso, el ajuste de P' se consigue con facilidad utilizando fases móviles consistentes en mezclas de dos disolventes. Por lo común, un cambio de 2 unidades en P' origina (muy aproximadamente) una variación de diez veces en k' . Es decir, para una separación en fase normal,

$$\frac{k'_2}{k'_1} = 10^{(P'_1 - P'_2)/2} \quad (28-3)$$

donde k'_1 y k'_2 son los valores inicial y final de k' para un soluto, y P'_1 y P'_2 son los correspondientes valores para P' . Para una columna en fase inversa,

$$\frac{k'_2}{k'_1} = 10^{(P'_2 - P'_1)/2} \quad (28-4)$$

Debería destacarse que estas ecuaciones son válidas sólo de forma aproximada. No obstante, pueden ser útiles como se demuestra en el Ejemplo 28-1.

EJEMPLO 28-1

En una columna de fase inversa, un soluto tenía un tiempo de retención de 31,3 min mientras que el de una especie no retenida era de 0,48 min, cuando la fase móvil contenía un 30 por 100 (en volumen) de metanol y un 70 por 100 de agua. Calcular (a) k' y (b) una composición de agua/metanol que produjera un k' de aproximadamente 5.

(a) Aplicando la Ecuación 26-8 se obtiene

$$k' = (31,3 - 0,48)/0,48 \text{ min} = 64$$

(b) Para obtener P' de la fase móvil se sustituyen los índices de polaridad del metanol y del

agua de la Tabla 28-2 en la Ecuación 28-2, y se obtiene

$$P' = 0,30 \times 5,1 + 0,70 \times 10,2 = 8,7$$

Al sustituir este resultado en la Ecuación 28-4 se tiene

$$\frac{5}{64} = 10^{(P'_2 - 8,7)/2}$$

Tomando logaritmos se llega a

$$\begin{aligned} -1,11 &= \frac{P'_2 - 8,7}{2} = 0,5 P'_2 - 4,35 \\ P'_2 &= 6,5 \end{aligned}$$

Siendo x la fracción de volumen de metanol en la nueva mezcla de disolventes, y sustituyendo de nuevo en la Ecuación 28-2, se encuentra

$$\begin{aligned} 6,5 &= x \times 5,1 + (1 - x)10,2 \\ x &= 0,73 \text{ o } 73\% \end{aligned}$$

De esta forma, el valor que se desea para k' lo debería proporcionar la mezcla de un 73 por 100 de metanol y 27 por 100 de agua.

Muchas veces, en las separaciones en fase inversa, se emplea una mezcla de disolventes formada por agua y un disolvente orgánico polar. El factor de retención se manipula entonces fácilmente variando la concentración de agua, tal como se muestra en el Ejemplo 28-1. El efecto de estas manipulaciones se muestra en los cromatogramas de las Figuras 28-16a y 28-16b, donde la muestra es una mezcla de seis esteroides. Con una mezcla del 41 por 100 de acetonitrilo y 59 por 100 de agua, k' tiene un valor de 5, y todos los analitos se eluyeron en un tiempo tan corto (≈ 2 min) que la separación resulta bastante incompleta. Al aumentar el porcentaje de agua a 70, la elución tiene lugar en 7 min, lo que dobla el valor de k' . En estas circunstancias el tiempo total de elución es suficiente para permitir la separación, aunque el valor de alfa para los compuestos 1 y 3 no sea lo suficientemente grande para una buena resolución.

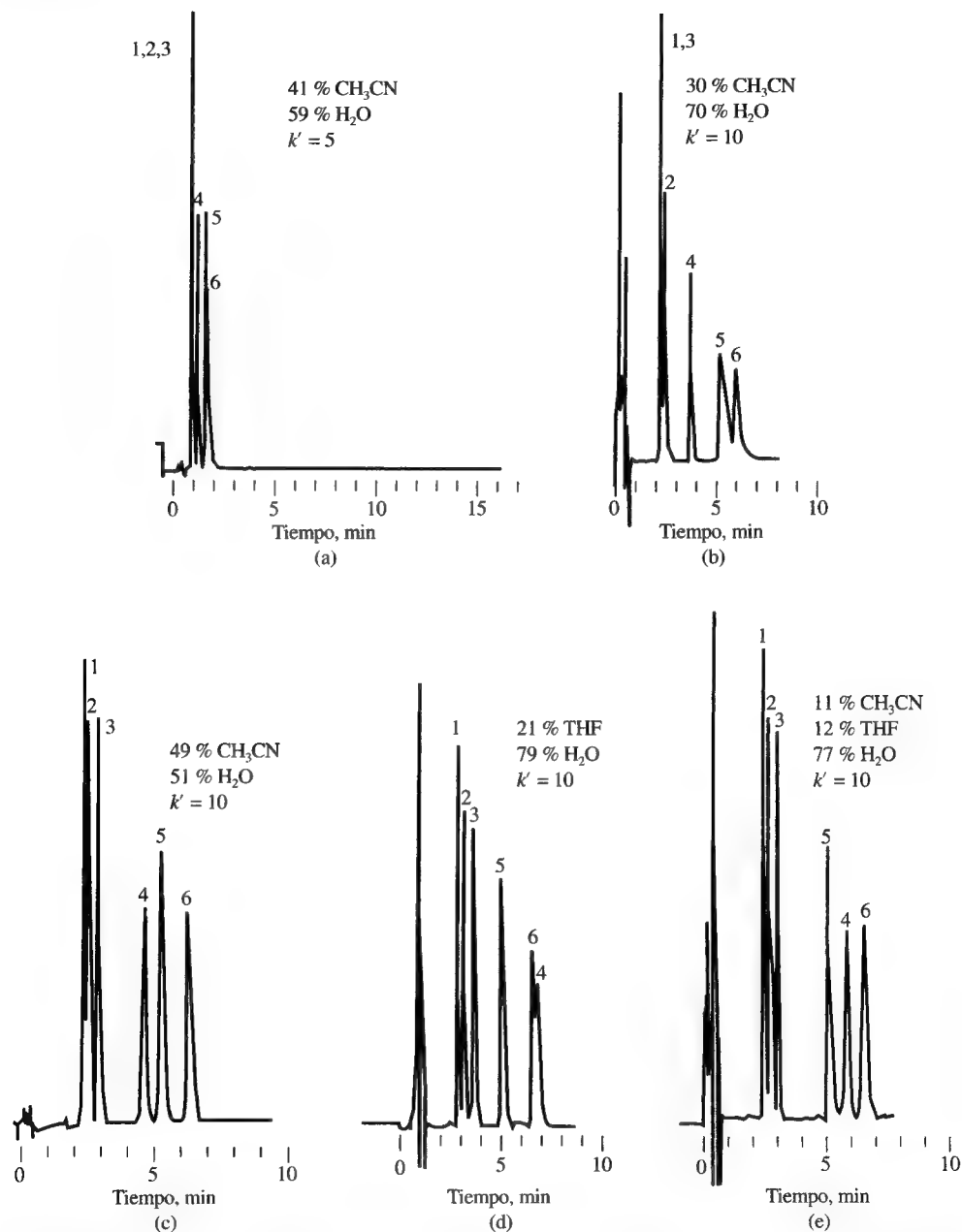


Figura 28-16. Metodología sistemática para la separación de seis esteroides. En (a) y en (b) se muestra el uso del agua para ajustar k' . Los efectos de la variación de α a k' constante se muestran en (b), (c), (d) y (e). Columna: $0,4 \times 150$ mm rellena con una fase inversa unida químicamente C₈ con partículas de 5 μ m. Temperatura: 50 °C. Caudal: 3,0 cm³/min. Detector: UV 254 nm. THF = tetrahidrofurano. CH₃CN = acetonitrilo. Compuestos: (1) prednisona; (2) cortisona; (3) hidrocortisona; (4) dexametasona; (5) corticosterona; (6) corticoxolona.

Influencia de la fase móvil en las selectividades. En muchos casos, ajustar k' a un nivel adecuado es todo lo que se necesita para una separación satisfactoria. Sin embargo, cuando todavía se

superponen dos bandas, como en la Figura 28-16, se ha de procurar aumentar el factor de selectividad α para las dos especies. Esta variación se puede llevar a cabo convenientemente cambiando la natura-

leza química de la fase móvil mientras k' mantiene más o menos el mismo valor.

Para la cromatografía en fase inversa se ha desarrollado un procedimiento de optimización con cuatro disolventes que permite establecer el sistema de disolventes que, en teoría, resolverá una mezcla dada en el mínimo tiempo²⁴. En este caso, se han utilizado tres disolventes compatibles para ajustar los valores de α ; se incluyen metanol, acetonitrilo y tetrahidrofurano. El agua se emplea para ajustar la fuerza de la mezcla y de este modo conseguir un valor adecuado de k' .

La Figura 28-16 ilustra la sistemática empleada para el desarrollo de la separación de seis esteroides por cromatografía en fase inversa con cuatro disolventes. Los dos primeros cromatogramas muestran los resultados de los experimentos iniciales para determinar el valor mínimo de k' que se requería. Con un k' de 10 existe espacio suficiente en la escala de tiempos para la separación de picos; sin embargo, en estas condiciones los valores de α para los componentes 1 y 3 (y en menor grado para 5 y 6) no son suficientemente grandes como para obtener una resolución satisfactoria. Con el objetivo de encontrar unos mejores valores de α se realizaron ensayos adicionales; en todos los casos la proporción de agua se ajustaba para obtener un $k' = 10$. En las Figuras 28-16c y 28-16d se muestran los resultados obtenidos en los ensayos con las mezclas metanol/agua y tetrahidrofurano/agua. Se realizaron experimentos adicionales variando sistemáticamente los pares de disolventes orgánicos (en cada caso k' se ajustaba a 10 mediante el agua). Finalmente se eligió la mezcla mostrada en la Figura 28-16e como la mejor fase móvil para la separación del grupo particular de compuestos ensayado.

En fase normal se ha utilizado un sistema de cuatro disolventes similar, en el cual los disolventes para el control de la selectividad son etiléter, cloruro de metileno y cloroformo; para el ajuste de la fuerza del disolvente se utiliza *n*-hexano. Con este sistema de cuatro disolventes, se dice que es posible la optimización con un número mínimo de ensayos.

28D-3. Aplicaciones de la cromatografía de reparto

Los rellenos con fases unidas químicamente, cuando se utilizan en fase inversa en combinación con

TABLA 28-3. Aplicaciones características de la cromatografía de reparto

Campo	Mezclas típicas
Fármacos	Antibióticos, sedantes, esteroides, analgésicos
Bioquímica	Aminoácidos, proteínas, carbohidratos, lípidos
Productos de alimentación	Edulcorantes artificiales, antioxidantes, aflatoxinas, aditivos
Productos de la industria química	Aromáticos condensados, tensioactivos, propulsores, colorantes
Contaminantes	Pesticidas, herbicidas, fenoles, PCB
Química forense	Drogas, venenos, alcohol en sangre, narcóticos
Medicina clínica	Ácidos biliares, metabolitos de drogas, extractos de orina, estrógenos.

disolventes muy polares (a menudo acuosos) se aproximan al sistema ideal y universal para la cromatografía de líquidos. Para investigar la separación de nuevos tipos de muestras, éstos son los rellenos que se utilizan en primer lugar debido a su amplio intervalo de aplicabilidad, su adecuación, y a la facilidad con que pueden modificarse k' y α variando las fases móviles acuosas.

La Tabla 28-3 enumera unos cuantos ejemplos característicos entre la gran variedad de aplicaciones de la cromatografía de reparto en diversos campos. Una idea más completa de la omnipresencia de esta técnica se puede obtener consultando las últimas revisiones en *Analytical Chemistry*²⁵.

La Figura 28-17 ilustra dos de los muchos miles de aplicaciones de la cromatografía de reparto con fases unidas químicamente para el análisis de materiales de consumo e industriales.

Formación de derivados

En algunos casos, es conveniente transformar los componentes de una muestra en unos derivados antes, o a veces después, de proceder a la separación cromatográfica. Este tratamiento puede ser necesari-

²⁴ Véase R. Lehrer, *Amer. Lab.*, **1981**, 13(10), 113; J. L. Glajch, y col., *J. Chromatogr. Sci.*, **1980**, 199, 57.

²⁵ J. G. Dorsey y col., *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 515R; **1994**, 66, 500R; **1992**, 64, 353A; **1990**, 62, 324R.

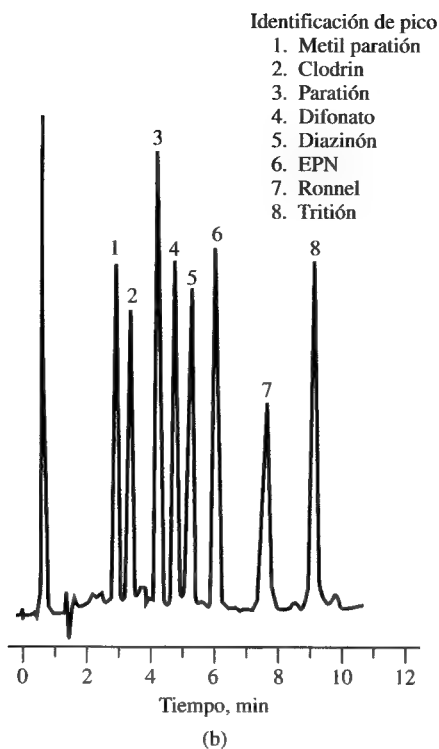
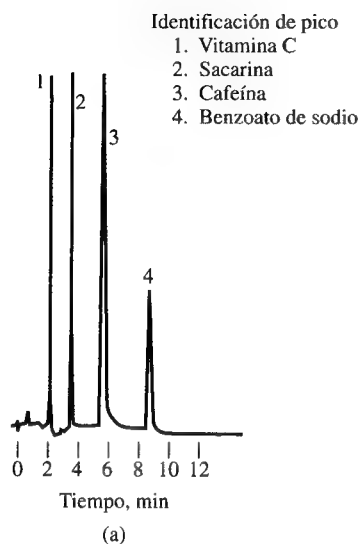


Figura 28-17. Aplicaciones características de la cromatografía de fase unida químicamente. (a) Aditivos en bebidas refrescantes. Columna: 4,6 × 250 mm rellena con fase unida químicamente polar (nitrilo). Disolvente en modo isocrático: HOAC 6 por 100/H₂O 94 por 100. Caudal: 1,0 cm³/min. (b) Insecticidas organofosforados. Columna: 4,5 × 250 mm rellena con fase unida químicamente C₈ con partículas de 5 μm. Gradiente: de CH₃OH 67 por 100/H₂O 33 por 100 a CH₃OH 80 por 100/H₂O 20 por 100. Caudal: 2 mL/min. En ambos casos la detección UV es a 254 nm.

rio para: (1) reducir la polaridad de las especies y de este modo poder utilizar columnas de reparto y no de adsorción o de intercambio iónico, (2) aumentar la respuesta del detector y, por tanto, la sensibilidad para todos los componentes de la muestra y (3) aumentar la selectividad de la respuesta del detector para determinados componentes de la muestra.

La Figura 28-18 ilustra el uso de los derivados para reducir la polaridad y aumentar la sensibilidad. La muestra está constituida por 30 aminoácidos de interés fisiológico. Hasta ahora esta separación se realizaba con una columna de intercambio iónico y con detección fotométrica basada en una reacción poscolumna de los aminoácidos con un reactivo colorimétrico como la ninhidrina. El cromatograma que se muestra en la Figura 28-18 corresponde a un procedimiento automático de formación de derivados *pre-columna* con ortoftalaldehído. Los isoindoles sustituidos²⁶ que se forman en la reacción exhiben una intensa fluorescencia a 425 nm, lo que permite la detección al nivel de

unos pocos picomoles (10⁻¹² moles). Por otra parte, la polaridad de los derivados hace posible la separación con rellenos de C₁₈ en fase inversa. Las ventajas de este procedimiento son la rapidez y el menor consumo de muestra.

Cromatografía de pares iónicos²⁷

La *cromatografía de pares iónicos* (o de formación de *parejas de iones*) es un tipo de cromatografía de reparto en fase inversa que se utiliza para la separación y determinación de especies iónicas. En la cromatografía de pares iónicos la fase móvil está constituida por una disolución tampón acuosa que contiene un disolvente orgánico como metanol o acetonitrilo, y un compuesto iónico que aporta un *contraión* de carga opuesta a la del analito. Un *contraión* es un ion que se combina con el ion del analito para formar una *pareja de iones*, que es una especie neutra que es retenida por el relleno de fase inversa. Obsérvese que la mayoría de los contraiones enumerados en la Tabla 28-4 poseen grupos al-

²⁶ Para la estructura de estos compuestos, véase S. S. Simons Jr. y D. F. Johnson, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1976**, 98, 7098.

²⁷ Véase *Ion Pair Chromatography*, M. T. W. Hearn, Ed. New York: Marcel Dekker, 1985.

1. Fosfoserina
2. Ácido aspártico
3. Ácido glutámico
4. Ácido α -aminoadípico
5. Asparagina
6. Serina
7. Glutamina
8. Histidina
9. Glicina
10. Treonina
11. Citrulina
12. 1-metilhistidina
13. 3-metilhistidina
14. Arginina
15. β -Alanina
16. Alanina
17. Taurina
18. Anserina
19. Ácido β -aminobutírico
20. Ácido β -aminoisobutírico
21. Tirosina
22. Ácido α -aminobutírico
23. Metionina
24. Valina
25. Triptófano
26. Fenilalanina
27. Isoleucina
28. Leucina
29. δ -Hidroxilisina
30. Lisina

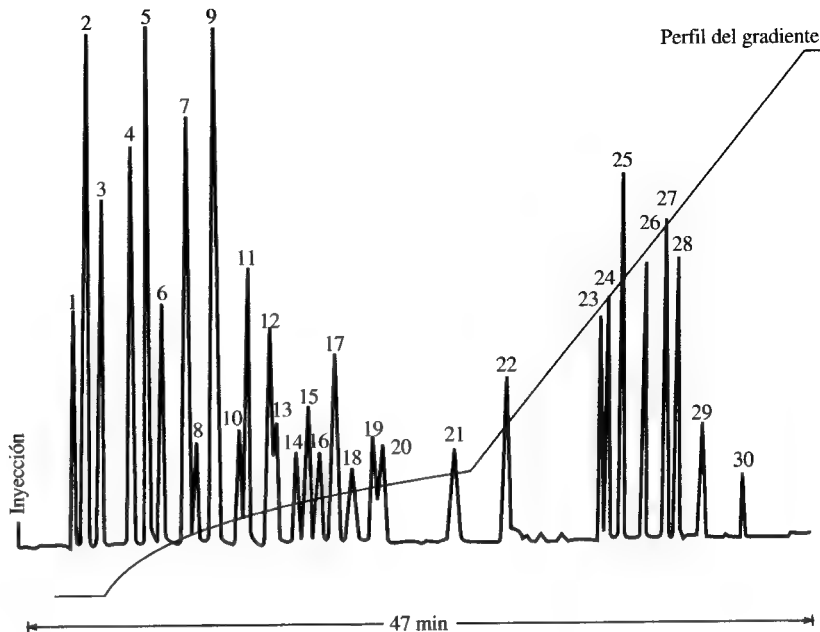


Figura 28-18. Cromatograma de los derivados de 30 aminoácidos de interés fisiológico con ortoftalaldehído. Columna: de fase inversa, C_{18} , 5 μ m. Disolvente A: Na_2HPO_4 , 0,05 M, pH 7,4, $\text{CH}_3\text{OH}/\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ 96:2:2. Disolvente B: $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ 65:35. Detector de fluorescencia: excitación a 334 nm; emisión a 425 nm.

quilo que mejoran las características de retención, del par iónico resultante, sobre la fase estacionaria no polar. La elución de los pares iónicos se consigue mediante una disolución acuosa de metanol o de otro disolvente orgánico soluble en agua.

Las aplicaciones de la cromatografía de pares iónicos con frecuencia se superponen con las de la cromatografía iónica, que se tratan en el Apartado 28F. Para la separación de pequeños iones inorgánicos y orgánicos se prefiere la cromatografía iónica a no ser que haya un problema de selectividad. Un ejemplo donde el método de pares iónicos proporciona una mejor separación es el análisis de mezclas de iones clorato y nitrato. Para estos dos solutos, la selectividad con un relleno de cromatografía iónica es bajo, mientras que la resolución con formación de pares de iones es excelente. Con iones grandes, la resolución de las separaciones por cromatografía de intercambio iónico es peor dado que las resinas de intercambio iónico tienen redes internas estrechas que ralentizan los procesos de transferencia de masa con la consiguiente pérdida de eficacia. Con los tensioactivos, la cro-

matografía de pares iónicos es el método de elección no sólo por el tamaño de los iones implicados sino también porque estas especies tienen una gran afinidad por los intercambiadores de iones, lo que dificulta su elución.

Cromatografía con fases estacionarias quirales²⁸

A mediados de los años sesenta, los químicos empezaron a utilizar las fases estacionarias quirales (CSP) para separar isómeros ópticamente activos (enantiómeros) tanto por cromatografía de gases como de líquidos. Esta técnica, aunque es útil en la cromatografía de gases, se ha demostrado que se adapta mejor a la cromatografía de líquidos de alta resolución tanto en columna como en plano, debido a que las diferencias entre las constantes de distribución de los diastereoisómeros se hacen menores

²⁸ Para una información adicional, véase D. W. Armstrong, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 84A; W. J. Lough, *Chiral Liquid Chromatography*. Glasgow: Blackie, 1989; M. Zief y L. H. Crane. New York: Marcel Dekker, 1988.

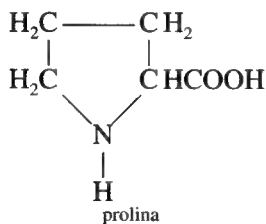
TABLA 28-4. Sistemas para cromatografía de pares iónicos en fase inversa

Muestra	Fase móvil	Contraion	Tipo de fase estacionaria
Aminas	0,1 M HClO ₄ /H ₂ O/acetonitrilo	ClO ₄ ⁻	FUQ ^a
	H ₂ O/CH ₃ OH/H ₂ SO ₄	C ₁₂ H ₂₅ SO ₃ ⁻	FUQ
Ácidos carboxílicos	pH 7,4	(C ₄ H ₉) ₄ N ⁺	FUQ
	pH 7,4	(C ₄ H ₉) ₄ N ⁺	L ^b
Ácidos sulfónicos	H ₂ O/C ₃ H ₇ OH	(C ₁₆ H ₃₃)(CH ₃) ₃ N ⁺	FUQ
	pH 7,4	(C ₄ H ₉) ₄ N ⁺	L ^b
	pH 3,8	Bis-(2-etilhexil)fosfato	L ^c
Colorantes	pH 2-4; H ₂ O/CH ₃ OH	(C ₄ H ₉) ₄ N ⁺	FUQ

^a Fase unida químicamente (FUQ).^b 1-Pentanol adsorbido (L).^c Ácido bis-(2-etilhexil)fosfórico/CHCl₃ adsorbido (L).

a las elevadas temperaturas de las columnas en cromatografía de gases. Por otra parte, las altas temperaturas muchas veces causan la racemización de las fases estacionarias quirales.

Actualmente se comercializan más de una docena de fases estacionarias quirales por distintos fabricantes. Todas ellas son recubrimientos sobre soportes de gel de sílice. El recubrimiento por lo general consiste en un material polimérico al cual se le ha enlazado un isómero ópticamente activo. Por ejemplo, la forma *l* del aminoácido prolina



se ha unido químicamente a un copolímero entrelazado de poliestireno-*p*-divinilbenceno para dar una fase estacionaria ópticamente activa para la separación de mezclas racémicas de aminoácidos. En esta aplicación, a la solución de los enantiómeros a separar se añaden iones cobre. Como se muestra en la Figura 28-19, se forma un complejo ternario entre la fase estacionaria, los cationes cobre y los aniones del aminoácido. La constante de formación de este complejo difiere cuando se trata de los aminoácidos *d* o *l*, y por ello es posible su separación.

28E. CROMATOGRFÍA DE ADSORCIÓN

La cromatografía de adsorción, o líquido-sólido, es la forma clásica de cromatografía de líquidos que introdujo Tswett por vez primera a principios del siglo XX. Más recientemente, se ha adaptado para llegar a convertirse en un método importante de HPLC²⁹.

Las únicas fases que se utilizan en HPLC líquido-sólido son la sílice y la alúmina, siendo la primera la que se prefiere para la mayoría, cuando no todas, las aplicaciones debido a su mayor capacidad de carga y a su mayor diversidad de presentaciones. Con pocas excepciones, las características de adsorción de los dos adsorbentes son similares. Con ambas, el orden de los tiempos de retención es: olefinas < hidrocarburos aromáticos < haluros, sulfuros < éteres < nitroderivados < ésteres ≈ aldehídos ≈ cetonas < alcoholes ≈ aminas < sulfonas < sulfóxidos < amidas < ácidos carboxílicos³⁰.

²⁹ Véase D. L. Saunders, *J. Chromatogr. Sci.*, **1977**, *15*, 372.

³⁰ Las superficies de sílice y de alúmina son muy polares, y las eluciones se realizan en general con alguna de las fases móviles menos polares. Por este motivo, algunos cromatografistas tratan la cromatografía de adsorción como un tipo de cromatografía de reparto en fase normal. (Por ejemplo, véase J. G. Dorsey, y col., *Anal. Chem.*, **1990**, *62*, 326R.)

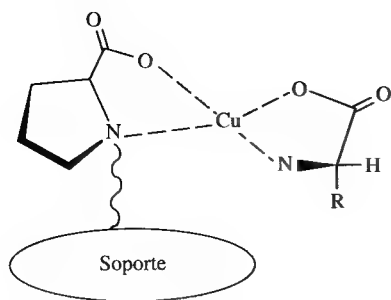


Figura 28-19. Esquema del complejo ternario que se forma entre una fase unida químicamente de L-prolina, el aminoácido a separar y el ion cobre(II).

28E-1. Selección del disolvente en cromatografía de adsorción

En cromatografía líquido-sólido, la única variable que se puede utilizar para optimizar k' y α es la composición de la fase móvil (a diferencia de la cromatografía de reparto, donde el relleno de la columna tiene un efecto acusado sobre α). Afortunadamente, en la cromatografía de adsorción, las modificaciones del disolvente provocan una gran variación en la resolución y en el tiempo de retención, y sólo en raras ocasiones no se puede encontrar la fase móvil adecuada.

Fuerza del disolvente

Se ha comprobado que el índice de polaridad P' , que se ha descrito en el Apartado 28D-2, puede también servir como una guía aproximada de la fuerza de los disolventes en cromatografía de adsorción. Sin embargo, un índice mucho mejor es la *fuerza eluyente* ϵ^0 , que es la energía de adsorción del disolvente por unidad de superficie³¹. Este parámetro depende del adsorbente, siendo los valores de ϵ^0 para la sílice 0,8 veces los de la alúmina. En la Tabla 28-2, los valores de ϵ^0 de la última columna corresponden a la alúmina. Obsérvese que las diferencias de ϵ^0 entre los disolventes se corresponden aproximadamente con las que se dan entre los valores de P' .

Elección de los disolventes

El procedimiento para la elección del disolvente en cromatografía de adsorción es semejante al descrito para las separaciones de reparto. Es decir, se eligen dos disolventes compatibles, uno de los cuales

es demasiado fuerte (ϵ^0 demasiado grande) y el otro que es demasiado débil. Variando la relación de volumen entre los dos disolventes se puede obtener el valor adecuado para k' . Se ha encontrado que un aumento de 0,05 unidades en el valor de ϵ^0 por lo general disminuye de 3 a 4 veces los valores de k' . De este modo, se pueden conseguir grandes variaciones de k' , y casi siempre se puede encontrar un sistema binario entre los disolventes de la Tabla 28-2 que proporcione unos tiempos de retención adecuados para cualquier tipo de muestra. Por desgracia, ϵ^0 no varía linealmente con la relación de volúmenes, como era el caso de P' en la cromatografía de reparto; por ello es más difícil calcular la mezcla óptima para la separación. Sin embargo, se han desarrollado algunos gráficos que relacionan ϵ^0 con la composición de las mezclas binarias de los disolventes más comunes³².

Cuando se produce un solapamiento de picos, el cambio de un disolvente fuerte por otro, mientras que k' se mantiene más o menos constante, permitirá cambiar los valores de α y a menudo obtener la resolución que se desea. Estas pruebas de tanteo son tediosas y a veces resultan infructuosas. En su lugar se han desarrollado métodos para sistematizar y simplificar la búsqueda³³. Uno de ellos consiste en experimentos preliminares mediante cromatografía en capa fina, que es la versión en lecho abierto de la cromatografía de adsorción (véase el Apartado 28H-3).

28E-2. Aplicaciones de la cromatografía de adsorción

La Figura 28-1 ilustra cómo la cromatografía de adsorción es la más adecuada para compuestos no polares probablemente con masas moleculares inferiores a 5.000. Los métodos de cromatografía de adsorción y los de reparto tienden a ser complementarios, aunque en algún caso se superponen.

En general, la cromatografía líquido-sólido es más adecuada para muestras que son solubles en disolventes no polares, y que por tanto tienen una solubilidad limitada en los disolventes acuosos que son los que se utilizan en los procedimientos de reparto en fase inversa. Como en cromatografía de

³² Para éste y otros aspectos prácticos de la cromatografía de adsorción, véase D. L. Saunders, *J. Chromatogr. Sci.*, **1977**, *15*, 372.

³³ Véase L. R. Snyder y J. J. Kirkland, *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, 2.^a ed., págs. 365-389. New York: Wiley, 1979.

³¹ Véase L. R. Snyder, *Principles of Adsorption Chromatography*, Capítulo 8. New York: Marcel Dekker, 1968.

reparto, los compuestos que tienen distintos grupos funcionales por lo general se pueden separar. Una característica particular de la cromatografía de adsorción, que no es compartida por otros métodos, es su capacidad para diferenciar compuestos isómeros en mezclas. La Tabla 28-5 compara las selectividades de la cromatografía de reparto y de adsorción para distintos tipos de analitos. Obsérvese que la resolución de homólogos y benzólogos es por lo general mejor con cromatografía de reparto en fase inversa. Sin embargo, la separación de isómeros es por lo común mejor con el procedimiento de adsorción.

La Figura 28-20 ilustra una aplicación característica de la cromatografía de adsorción.

28F. CROMATOGRAFÍA IÓNICA

La cromatografía de intercambio iónico (IC) para la que a menudo se utiliza el término abreviado *cromatografía iónica* está relacionada con los métodos modernos y eficaces para la separación y de-

terminación de iones que se basan en el uso de las resinas de intercambio iónico. La cromatografía iónica empezó a desarrollarse a mediados de los años setenta, cuando se demostró que se podían resolver fácilmente mezclas de cationes o aniones mediante las columnas de HPLC rellenas con resinas de intercambio catiónico o aniónico. Por entonces, la detección se realizaba por lo general con medidas de conductividad. En la actualidad, se dispone también de otros detectores para la cromatografía iónica³⁴.

La cromatografía iónica evolucionó al margen de la cromatografía de intercambio iónico, y durante el proyecto Manhattan se desarrolló para la separación de los cationes de las tierras raras estrechamente relacionados con resinas de intercambio catiónico. Este espectacular trabajo, en el cual se basa la teoría de las separaciones por intercambio iónico, se extendió tras la II Guerra Mundial a muchos otros tipos de materiales y al final condujo a los métodos automáticos para la separación y detección de aminoácidos y otras especies iónicas en mezclas complejas. El desarrollo de la HPLC moderna empezó a finales de los años sesenta, pero su aplicación a la separación por intercambio iónico de especies iónicas se retrasó debido a la falta de un método general y sensible para la detección de especies iónicas eluidas como los cationes alcalinos y alcalinotérreos, y aniones como los haluros, acetato y nitrato. Esta situación se remedió en 1975 al desarrollarse por técnicos de la Dow Chemical Company la técnica de supresión del eluyente, que hace posible la detección conductimétrica de los iones eluidos³⁵. Esta técnica se describe en el Apartado 28F-3.

28F-1. Equilibrios de intercambio iónico

Los procesos de intercambio iónico se basan en los equilibrios de intercambio entre los iones de una

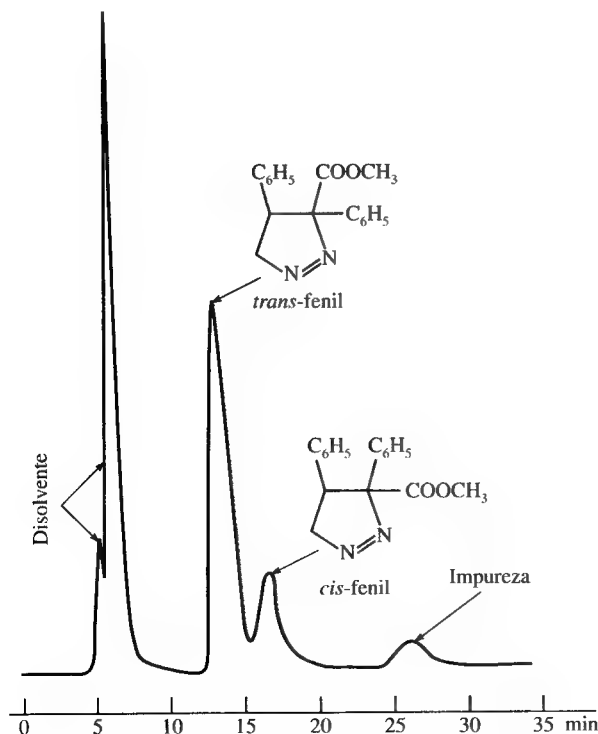
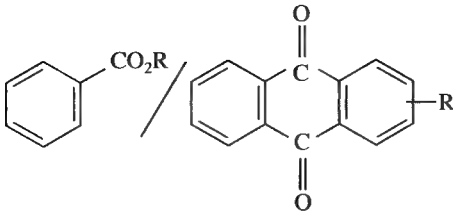
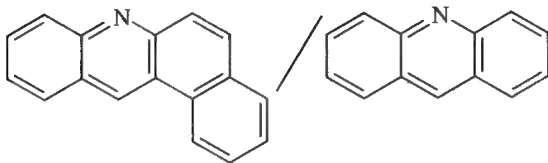
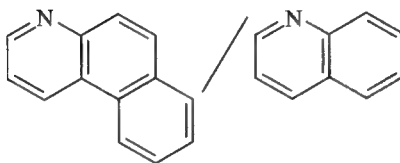
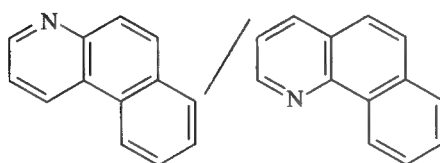
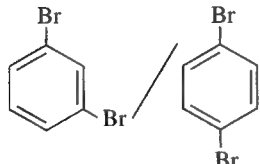
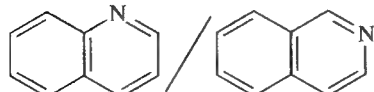


Figura 28-20. Aplicación característica de la cromatografía de adsorción: separación de *cis*- y *trans*-pirazolina. Columna: 100 × 0,3 cm, sílice pelicular. Fase móvil: 50 por 100 cloruro de metileno/isooctano. Temperatura: ambiente. Caudal: 0,225 mL/min. Detector: UV, 254 nm.

³⁴ Para una breve revisión de la cromatografía iónica moderna, véase J. F. Fritz, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 335A; P. K. Dasgupta, *Anal. Chem.*, **1992**, 64, 775A. Para monografías sobre el tema, véase H. Small, *Ion Chromatography*. New York: Plenum Press, 1989; D. T. Gjerde y J. S. Fritz, *Ion Chromatography*, 2.^a ed. Mamaroneck, NY: Huething, 1987; R. E. Smith, *Ion Chromatography Applications*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1987; J. Weiss, *Ion Chromatography*, 2.^a ed. New York: VCH, 1995; P. R. Haddad y P. E. Jackson, *Ion Chromatography: Principles and Applications*, New York: Elsevier, 1990. Para la descripción de los instrumentos comercialmente disponibles para IC, véase D. Noble, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 205A.

³⁵ H. Small, T. S. Stevens y W. C. Bauman, *Anal. Chem.*, **1975**, 47, 1801.

TABLA 28-5. Comparación entre las selectividades de la cromatografía en fase inversa y de adsorción*

Separación de	Compuesto	Adsorción, α	Fase inversa, α
Homólogos			
		4,8	3,3
		4,1	6,5
		3,6	17
Benzólogos		1,2	1,4
		1,1	1,8
Isómeros		12,5	1,06
		1,8	
		3,4	
	1,2,3,4-dibenzoantraceno, $C_{22}H_{14}$ /Piceno, $C_{22}H_{14}$	20	

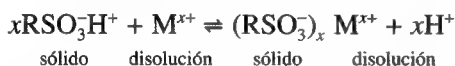
* Datos de: L. R. Snyder y J. J. Kirkland, *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, 2.^a ed., págs. 357-358. New York: Wiley, 1979.

disolución y los iones del mismo signo que están en la superficie de un sólido de elevada masa molecular y esencialmente insoluble. Durante varias décadas se han utilizado intercambiadores iónicos na-

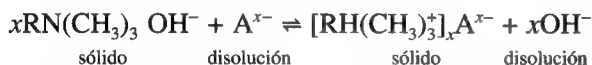
turales como las arcillas y las zeolitas. A mediados de los años treinta se fabricaron por primera vez resinas de intercambio iónico sintéticas para disminuir la dureza del agua, para la desionización del

agua y para la purificación de las disoluciones. Los sitios activos más comunes en las resinas de intercambio catiónico son los grupos de ácido sulfónico $-\text{SO}_3\text{H}^+$, un ácido fuerte, y los grupos de ácido carboxílico $-\text{COO}^-\text{H}^+$, un ácido débil. Los intercambiadores aniónicos contienen grupos amino terciario $-\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{OH}^-$ o grupos amino primario $-\text{NH}_3\text{OH}^-$; los primeros son bases fuertes y los últimos bases débiles.

Cuando un intercambiador iónico de ácido sulfónico se pone en contacto con un disolvente acuoso que contiene cationes M^{x+} se establece un equilibrio de intercambio que puede describirse por



donde RSO_3H^+ representa *uno* de los muchos grupos de ácido sulfónico unidos a una gran molécula polimérica. De una forma semejante, un intercambiador de base fuerte interacciona con los aniones A^{x-} según la siguiente reacción



Como un ejemplo de la aplicación de la ley de acción de masas a los equilibrios de intercambio iónico, se considera la reacción entre los iones de una sola carga, B^+ , con una resina de ácido sulfónico en una columna cromatográfica. Partiendo de una disolución neutra, inicialmente tiene lugar la retención de los iones B^+ en la cabeza de la columna debido a la reacción



En este caso, (s) y (ac) subraya que el sistema contiene una fase sólida y una acuosa. Al eluir con una disolución diluida de ácido clorhídrico, el equilibrio de la Ecuación 28-5 se desplaza a la izquierda haciendo que parte de los iones B^+ en la fase estacionaria se transfieran a la fase móvil. De este modo, esos iones se desplazan a lo largo de la columna tras una serie de transferencias entre la fase móvil y la estacionaria.

La constante de equilibrio K_{ex} , para la reacción de intercambio mostrada en la Ecuación 28-5 adopta la forma

$$\frac{[\text{RSO}_3\text{B}^+]_s [\text{H}^+]_{ac}}{[\text{RSO}_3\text{H}^+]_s [\text{B}^+]_{ac}} = K_{ex} \quad (28-6)$$

Donde $[\text{RSO}_3\text{B}^+]_s$ y $[\text{RSO}_3\text{H}^+]_s$ son las concentraciones (actividades en sentido estricto) de B^+ y H^+ en la fase sólida. Reordenando se tiene

$$\frac{[\text{RSO}_3\text{B}^+]_s}{[\text{B}^+]_{ac}} = K_{ex} \frac{[\text{RSO}_3\text{H}^+]_s}{[\text{H}^+]_{ac}} \quad (28-7)$$

Durante la elución, la concentración de iones hidrógeno en la disolución acuosa es mucho mayor que la concentración de los iones B^+ en la fase móvil. Por otra parte, el intercambiador tiene una gran cantidad de puntos de intercambio en relación con el número de iones B^+ que interaccionan. De esta forma, las concentraciones totales de $[\text{H}^+]_{ac}$ y de $[\text{RSO}_3\text{H}^+]_s$ no se ven afectadas significativamente por los desplazamientos del equilibrio 28-5. Por tanto, cuando $[\text{RSO}_3\text{H}^+]_s \gg [\text{RSO}_3\text{B}^+]_s$ y $[\text{H}^+]_{ac} \gg [\text{B}^+]_{ac}$ el miembro de la derecha de la Ecuación 28-7 es prácticamente constante, y se puede escribir

$$\frac{[\text{RSO}_3\text{B}^+]_s}{[\text{B}^+]_{ac}} = K = \frac{c_s}{c_M} \quad (28-8)$$

donde K es la constante que se corresponde con la constante de distribución tal como se define por la Ecuación 26-1. Todas las ecuaciones de la Tabla 26-4 (Apartado 26E) pueden así aplicarse a la cromatografía de intercambio iónico de la misma forma que a los otros tipos que ya se han considerado.

Obsérvese que K_{ex} en la Ecuación 28-6 representa la afinidad de la resina por los iones B^+ relativa a otro ion (en este caso, H^+). Cuando K_{ex} tiene un valor alto, la fase sólida tiene una gran tendencia a retener los iones B^+ y cuando K_{ex} es pequeña sucede lo contrario. Seleccionando un ion de referencia común como el H^+ , se pueden comparar experimentalmente los coeficientes de distribución de distintos iones para una resina dada. Estos experimentos ponen de manifiesto que los iones polivalentes se retienen mucho más fuertemente que las especies con una sola carga. Sin embargo, dentro de un grupo con la misma carga, aparecen diferencias relacionadas con el tamaño del ion hidratado y con otras propiedades. De este modo, para una resina característica de intercambio catiónico con grupos sulfónicos, los valores de K_{ex} disminuyen en el orden siguiente: $\text{Ti}^+ > \text{Ag}^+ > \text{Cs}^+ > \text{Rb}^+ > \text{K}^+ > \text{NH}_4^+ > \text{Na}^+ > \text{H}^+ > \text{Li}^+$. Para los cationes divalentes, el orden es $\text{Ba}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Sr}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{UO}_2^{2+}$.

Para los aniones, K_{ex} en las resinas de base fuerte disminuye en el orden $SO_4^{2-} > C_2O_4^{2-} > I^- > NO_3^- > Br^- > Cl^- > HCO_3^- > CH_3CO_2^- > OH^- > F^-$. Esta secuencia debería considerarse sólo como una aproximación, pues depende, en parte, de la resina y de las condiciones experimentales.

28F-2. Rellenos de intercambio iónico

Históricamente, en cromatografía de intercambio iónico se han empleado pequeñas partículas esféricas porosas que se forman en la copolimerización del estireno y del divinilbenceno emulsionados. La presencia de divinilbenceno (normalmente ≈ 8 por 100) origina una polimerización entrecruzada que confiere estabilidad mecánica a las bolitas. Con objeto de activar el polímero frente a los iones, a la estructura se le unen químicamente grupos funcionales ácidos o básicos. Los grupos más comunes son el ácido sulfónico y las aminas cuaternarias.

La Figura 28-21 muestra la estructura de una resina de ácido fuerte. Obsérvese que la polimerización entrecruzada mantiene juntas las cadenas lineales de poliestireno. Los otros tipos de resinas tienen estructuras similares excepto en el grupo funcional activo.

Las partículas poliméricas porosas no resultan completamente satisfactorias como rellenos cromatográficos debido a la baja velocidad de difusión de las moléculas de los analitos a través de los microporos de la matriz polimérica, y también de-

bido a la compresibilidad de la matriz. Para solventar este problema, se han desarrollado dos nuevos tipos de rellenos que se utilizan más que el tipo de polímero poroso. Uno es el relleno de partícula pelicular en el que la superficie de una partícula relativamente grande (de 30 a 40 μm) esférica y no porosa; de vidrio o polimérica se recubre con una resina sintética de intercambio iónico. Un segundo tipo de relleno se prepara recubriendo micropartículas porosas de sílice, tal como las que se utilizan en la cromatografía de adsorción, con una delgada película del intercambiador. Con cualquiera de ellas, se obtiene un aumento de la eficacia debido a que la difusión en el polímero es más rápida. Por otra parte, la capacidad de carga de estos rellenos es menor, especialmente los de tipo pelicular.

28F-3. Aplicaciones inorgánicas de la cromatografía iónica

La fase móvil en cromatografía de intercambio iónico ha de tener las mismas propiedades generales que se requieren para los otros tipos de cromatografía. Es decir, ha de solubilizar la muestra, tener una fuerza disolvente que conduzca a tiempos de retención razonables (valores de k' adecuados), y debe interaccionar con los solutos de tal forma que favorezca la selectividad (valores de α adecuados). En cromatografía iónica las fases móviles suelen ser disoluciones acuosas que pueden contener cantidades moderadas de metanol u otros disolventes

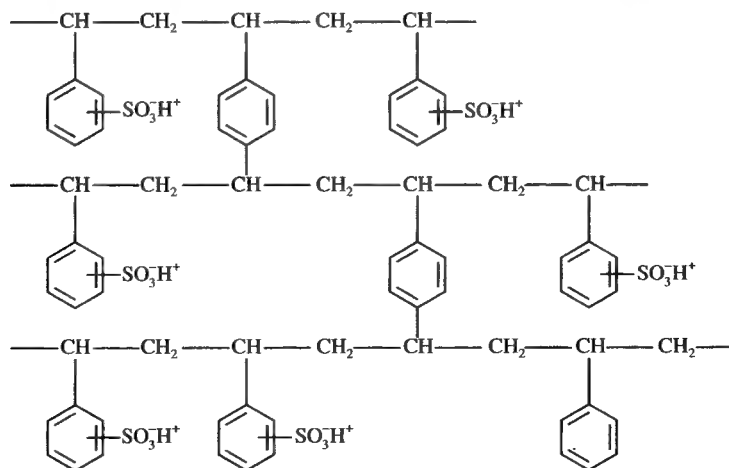


Figura 28-21. Estructura de una resina de intercambio iónico de poliestireno entrecruzado. Se utilizan resinas parecidas en la que los grupos $-SO_3H^+$ se sustituyen por grupos $-COO^-H^+$, $-NH_3^+OH^-$ y $-N(CH_3)_3^+OH^-$.

orgánicos miscibles con el agua; estas fases móviles, a menudo contienen especies iónicas para formar un tampón. La fuerza eluyente y la selectividad se determinan por el tipo y concentración de estos compuestos añadidos. En general, los iones de la fase móvil compiten con los iones del analito por los puntos activos del relleno del intercambiador iónico.

Cromatografía iónica con columnas supresoras

Como se ha señalado anteriormente, la aplicación de la cromatografía iónica para la determinación de especies inorgánicas no se desarrolló debido a la falta de un buen sistema de detección universal, que permitiera la determinación cuantitativa de iones basada en las áreas de los picos cromatográficos. Los detectores de conductividad eran la elección obvia para este objetivo. Estos detectores pueden tener una elevada sensibilidad, son universales para las especies cargadas y, como norma general, responden de una forma predecible a los cambios de concentración. Además, dichos detectores son sencillos y baratos de fabricación y mantenimiento, fáciles de miniaturizar, y por lo común son robustos y de prolongada duración. La única limitación de los detectores de conductividad resultó ser un serio problema que retrasó su uso generalizado. Esta limitación proviene de la elevada concentración de electrólito que se requiere para eluir la mayoría de los iones analito en un tiempo razonable. En consecuencia, la conductividad de los componentes de la fase móvil tiende a enmascarar la de los analitos, y por ello se reduce considerablemente la sensibilidad del detector.

En 1975, el problema de la elevada conductividad del eluyente fue resuelto mediante la introducción de la denominada columna supresora del eluyente inmediatamente después de la columna analítica de intercambio iónico. La columna supresora está rellena con una segunda resina de intercambio iónico, que convierte eficazmente los iones del disolvente en especies moleculares poco ionizadas, sin alterar los iones del analito. Por ejemplo, cuando se separan y determinan cationes, se elige en muchas ocasiones el ácido clorhídrico como reactivo eluyente, y la columna supresora es una resina de intercambio aniónico en la forma hidróxido. El producto de la reacción en la columna supresora es agua. Esto es,



Es evidente que los cationes a analizar no se retienen en esta segunda columna.

Para la separación de aniones, el relleno supresor es la forma ácida de una resina de intercambio catiónico. En este caso, el bicarbonato o carbonato de sodio puede utilizarse como agente eluyente. La reacción en la columna supresora es entonces



En este caso, el ácido carbónico muy poco disociado que se forma no contribuye de manera significativa a la conductividad.

Un inconveniente de las columnas supresoras es la necesidad de regenerarlas periódicamente (normalmente, cada 8 o 10 h) a fin de convertir los rellenos otra vez en la forma ácida o básica original. Sin embargo, recientemente se dispone de supresores de membrana que operan continuamente como muestra la Figura 28-22. En este caso, el eluyente y la disolución supresora fluyen en direcciones opuestas en ambos lados de las membranas permeables de intercambio iónico señaladas con

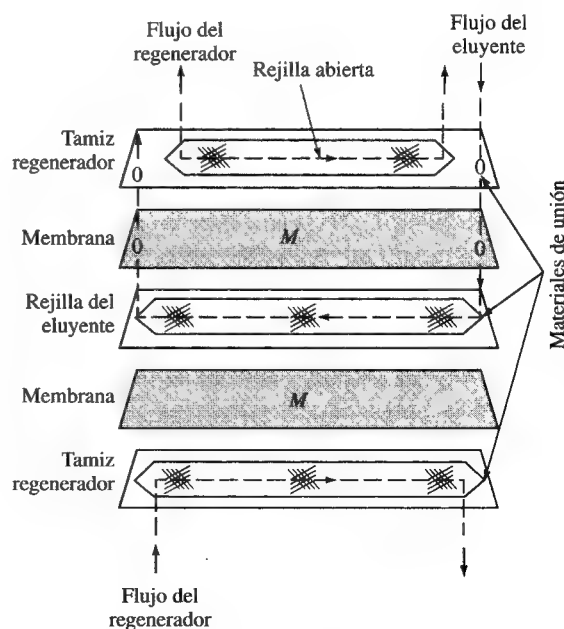


Figura 28-22. Micromembrana supresora. El efluente fluye a través de un canal estrecho que contiene una rejilla de plástico que reduce el volumen muerto y aumenta la velocidad de transferencia de masa. El eluyente se separa de la disolución supresora por unas resinas de intercambio de 50 μm . El flujo del regenerador va en la dirección opuesta al flujo del eluyente.

una *M*. Para el análisis de aniones, las membranas son resinas intercambiadoras de cationes; y para cationes, son intercambiadoras de aniones. Cuando, por ejemplo, se trata de eliminar los iones sodio del efluente de la columna analítica, en la corriente supresora fluye continuamente ácido para la regeneración. Los iones sodio del efluente se intercambian con los iones hidrógeno de la membrana y entonces migran a través de la membrana hasta intercambiarse con los iones hidrógeno del reactivo regenerador. El dispositivo tiene una velocidad de intercambio notablemente alta; por ejemplo, es capaz de eliminar completamente los iones sodio de una disolución 0,1 M de hidróxido de sodio cuando el caudal del eluyente es de 2 mL/min.

En los instrumentos comerciales recientemente diseñados, la regeneración de las disoluciones del supresor se realiza automáticamente con iones hidróxido o protones que se electrogeneran, de tal manera que no es necesario interrumpir el uso de los instrumentos para la regeneración³⁶.

La Figura 28-23 muestra dos aplicaciones de la cromatografía iónica que utilizan una columna supresora y detección conductimétrica. En cada caso, los iones están presentes al nivel de partes por millón, y el tamaño de las muestras es de 50 μ L en un caso y de 100 μ L en el otro. El método es de gran importancia para el análisis de aniones debido a que actualmente no existe un método tan rápido y adecuado para el tratamiento de mezclas de este tipo.

Cromatografía iónica con una sola columna³⁷

También están comercializados equipos para cromatografía iónica en los que no se utiliza una columna supresora. Estos sistemas se basan en las pequeñas diferencias de conductividad entre los iones eluidos presentes en la muestra y los iones del eluyente que prevalecen. Para aumentar estas diferencias, se utilizan intercambiadores de baja capacidad que hacen posible la elución con especies de baja conductancia equivalente³⁸. La cromatografía con una sola columna tiende a ser de alguna manera menos sensible y a tener más limitaciones que la cromatografía iónica con columna supresora.

Concentraciones, ppm		Concentraciones, ppm	
F	3	Ca ²⁺	3
Formiato	8	Mg ²⁺	3
BrO ₃ ⁻	10	Sr ²⁺	10
Cl ⁻	4	Ba ²⁺	25
NO ₂ ⁻	10		
HPO ₄ ²⁻	30		
Br ⁻	30		
NO ₃ ⁻	30		
SO ₄ ²⁻	25		

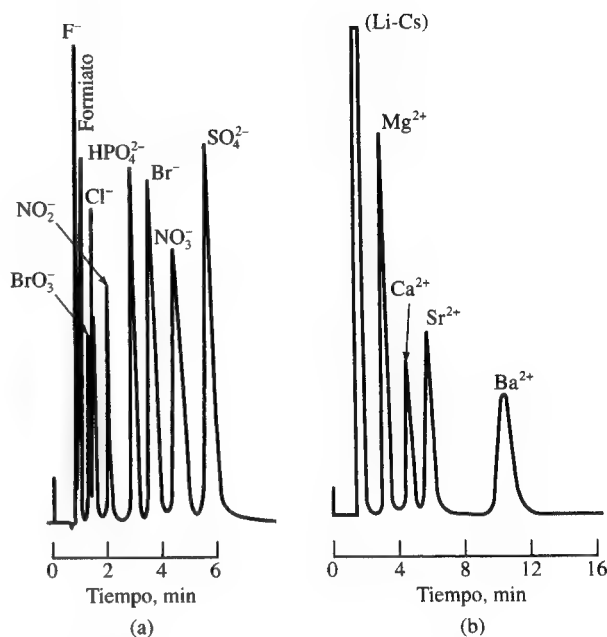


Figura 28-23. Aplicaciones características de la cromatografía iónica. (a) Separación de aniones en una columna de intercambio aniónico. Eluyente: NaHCO₃ 0,0028 M/Na₂CO₃ 0,0023 M. Tamaño de muestra: 50 μ L. (b) Separación de iones alcalino-térreos en una columna de intercambio catiónico. Eluyente: diclorhidrato de fenilenodiamina 0,025 M/HCl/0,0025 M. Tamaño de muestra: 100 μ L.

Recientemente se ha descrito un método fotométrico indirecto que permite la separación y detección de aniones y cationes no absorbentes sin columna supresora³⁹. En este caso no se utiliza columna supresora, y en vez de ello, se utilizan aniones o cationes absorbentes para desplazar a los iones a analizar de la columna. Cuando los iones del analito son desplazados del intercambiador, su lugar es ocupado por un número igual de iones del eluyente (por supuesto, siempre que la carga de los iones analito y eluyente sea la misma). De este modo, la absorbancia

³⁶ Véase A. Henshall y col., *Amer. Lab.*, **1992** (11), 20R; R. Saari-Nordhaus y J. M. Anderson, *Amer. Lab.*, **1996** (2), 33N.

³⁷ Véase D. T. Gjerde y J. S. Fritz, *Ion Chromatography*, 2.^a ed. Mamaroneck, NY: Huethig Verlag, 1987.

³⁸ Véase J. F. Fritz, D. T. Gjerde y R. M. Becker, *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 1519.

³⁹ H. Small y T. E. Miller, *Anal. Chem.*, **1982**, 54, 462.

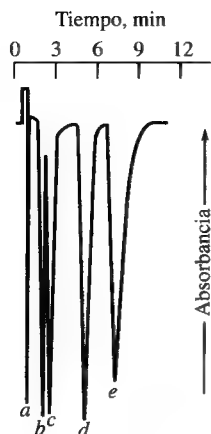


Figura 28-24. Detección fotométrica indirecta de varios aniones. Eluyente: ftalato de sodio 10^{-3} M ácido bórico 10^{-3} M a pH 10. Caudal: 5 mL/min. Volumen de muestra: 0,02 mL. Detector UV. Iones en la muestra: (a) 18 μg de carbonato; (b) 1,4 μg de cloruro; (c) 3,8 μg de fosfato; (d) 5 μg de azida; (e) 10 μg de nitrato.

cia del efluente de la columna desciende cuando los iones del analito salen de la columna. La Figura 28-24 muestra un cromatograma obtenido con este procedimiento. En este caso, el eluyente era una disolución diluida de ftalato disódico, siendo el ion ftalato la especie desplazante y absorbente en el ultravioleta. La detección indirecta tiene un intervalo dinámico más reducido que la detección directa.

28F-4. Aplicaciones orgánicas y bioquímicas de la cromatografía iónica

La cromatografía de intercambio iónico se ha aplicado a una gran variedad de sistemas orgánicos y bioquímicos incluyendo fármacos y sus metabolitos, sueros, conservantes de alimentos, mezclas de vitaminas, azúcares y preparaciones farmacéuticas. Un ejemplo de estas aplicaciones se muestra en la Figura 28-25, en la que se separan en una columna de intercambio catiónico 1×10^{-8} moles de cada uno de los 17 aminoácidos.

28F-5. Cromatografía de exclusión de iones

La cromatografía de exclusión de iones no es una forma de cromatografía iónica debido a que son especies neutras y no iones los que se separan. De todos modos, es conveniente considerarla aquí porque en la cromatografía de exclusión de iones, al igual que en la cromatografía iónica, se utilizan columnas de intercambio de iones para realizar las separaciones.

La teoría y las aplicaciones de la cromatografía de exclusión de iones se ilustran en el cromatograma que muestra la Figura 28-26 de la separación adecuada de ácidos carboxílicos sencillos. En este caso, la fase estacionaria es una resina de intercam-

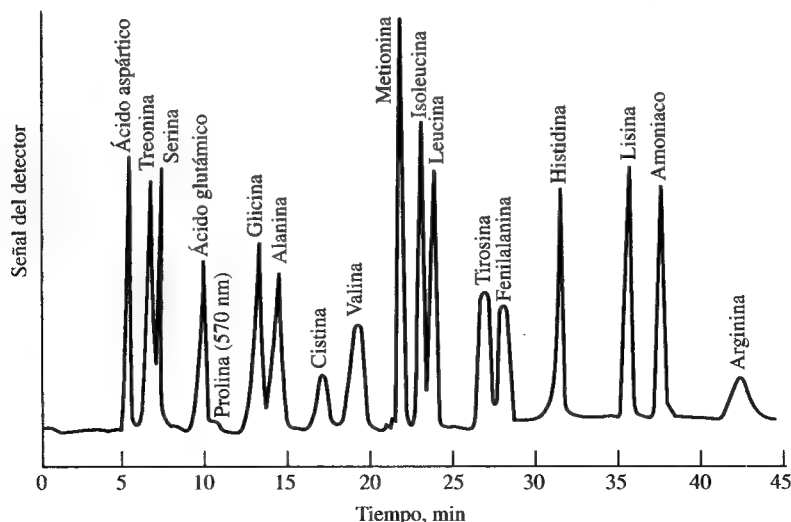


Figura 28-25. Separación de aminoácidos con una columna de intercambio iónico. Relleno: intercambiador catiónico con un tamaño de partícula de 8 μm . Presión: 2.700 psi.

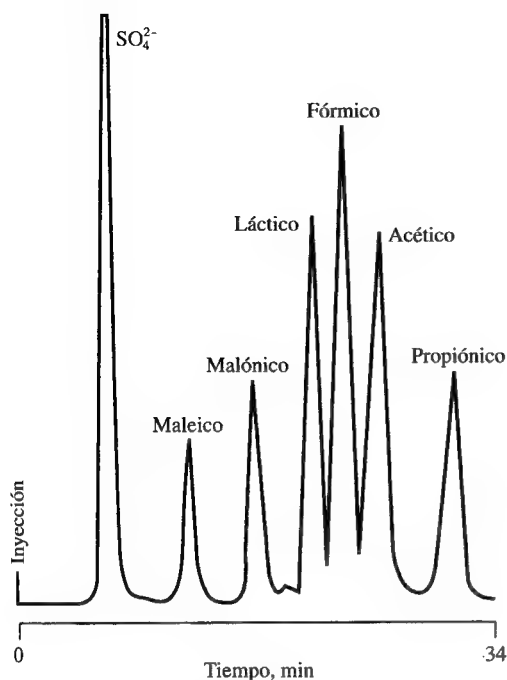


Figura 28-26. Cromatograma de exclusión de iones de una mezcla de seis ácidos débiles.

bio catiónico en su forma ácida y la elución se lleva a cabo mediante una disolución diluida de ácido clorhídrico. La columna analítica va seguida de la columna supresora que está rellena con una resina de intercambio catiónico, en la forma de catión la plata. Los protones del eluyente se intercambian por los iones plata que hacen precipitar a los iones cloruro, eliminando así la contribución iónica del eluyente. La forma no disociada de los ácidos a analizar se distribuye entre la fase móvil en la columna y el líquido inmovilizado retenido en los poros del relleno. Los coeficientes de distribución de los diferentes ácidos se relacionan inversamente con las constantes de disociación aunque también intervienen otros factores en tanto que son diferentes especies que se distribuyen entre dos fases.

La cromatografía de exclusión de iones tiene distintas aplicaciones en la identificación y determinación de especies ácidas en distintas muestras como leche, café, vino y otros productos manufacturados. Las sales de los ácidos débiles también pueden analizarse dado que se convierten en sus correspondientes ácidos en presencia de los protones del intercambiador. También se pueden determinar por cromatografía de exclusión de iones las bases débiles y sus sales. En este caso, la columna

empleada es un intercambiador aniónico en la forma hidróxido.

28G. CROMATOGRAFÍA DE EXCLUSIÓN POR TAMAÑO

La *cromatografía de exclusión por tamaño*, que también se ha denominado *cromatografía de penetrabilidad sobre geles* o *de filtración sobre geles*, es una técnica muy valiosa que se aplica particularmente a especies de elevado peso molecular⁴⁰. Los rellenos para la cromatografía de exclusión por tamaño están constituidos por pequeñas partículas ($\approx 10 \mu\text{m}$) poliméricas o de sílice que contienen una red de poros uniforme en los que pueden difundir las moléculas del soluto y del disolvente. Las moléculas son atrapadas eficazmente en los poros y eliminadas del flujo de la fase móvil. El tiempo de residencia medio en los poros depende del tamaño efectivo de las moléculas de los analitos. Las moléculas que son más grandes que el tamaño medio de poros del relleno son excluidas y de esta forma, esencialmente no se retienen y, por tanto, son las primeras que eluyen. Las moléculas que tienen diámetros que son significativamente menores que los poros, pueden penetrar a través del laberinto de poros y así resultan atrapadas durante más tiempo; éstas son las últimas en eluir. Entre estos dos extremos, están las moléculas de tamaño intermedio cuya penetración media en los poros depende de su diámetro. Dentro de este grupo, tiene lugar el fraccionamiento, que está directamente relacionado con el tamaño molecular y en cierto modo con la forma molecular. Obsérvese que las separaciones por exclusión por tamaño difieren de los otros procedimientos que se han considerado, en que no implican una interacción química o física entre los analitos y la fase estacionaria. De hecho, se procura evitar este tipo de interacciones dado que originan una mala eficacia de la columna. Obsérvese también que a diferencia de otros tipos de cromatografía, hay un límite superior para el tiempo de retención, ya que ningún analito es retenido

⁴⁰ Para monografías sobre este tema, véase *Size Exclusion Chromatography*, B. J. Hunt y S. R. Holding, Eds. New York: Chapman y Hall, 1988; *Aqueous Size-Exclusion Chromatography*, P. L. Dubin, Ed. Amsterdam, Neth.: Elsevier, 1988, *Handbook of Size-Exclusion Chromatography*, C. S. Wu, Ed. New York, Marcel Dekker, 1995.

* Peso molecular por encima del cual no se produce la retención.

en sus poros, y V_o , es el volumen libre exterior a las partículas del gel. Suponiendo que no hay mezcla ni difusión, V_o también representa el volumen teórico de disolvente que es necesario para transportar a través de la columna a los componentes que son demasiado grandes para entrar en los poros del gel. Sin embargo, de hecho tiene lugar algo de difusión y de mezcla, y como consecuencia de ello los componentes que no son retenidos aparecen originando una banda de forma gaussiana con una concentración máxima a V_o . Los máximos de banda de los componentes que son suficientemente pequeños para entrar libremente en los poros del gel, aparecerán al final de la columna con un volumen de elución que corresponderá a $(V_i + V_o)$. Por lo general, V_i , V_o , y V_g son del mismo orden de magnitud y, por tanto, una columna de gel permite separar con un volumen mínimo de eluyente los componentes grandes de los pequeños en una muestra.

Las moléculas de tamaño intermedio pueden transferirse a una fracción K del disolvente que ocupa los poros; el volumen de elución V_e , para esas moléculas retenidas es

$$V_e = V_o + KV_i \quad (28-10)$$

La Ecuación 28-10 se aplica a todos los solutos que pasan por la columna. Para las moléculas que son demasiado grandes para entrar en los poros, $K = 0$ y $V_e = V_o$; para las moléculas que pueden entrar en los poros libremente, $K = 1$ y $V_e = (V_o + V_i)$. Al deducir la Ecuación 28-10, se considera que no existe interacción alguna, como la adsorción, entre las moléculas del soluto y la superficie del gel. Si hubiera adsorción, la cantidad de soluto retenido intersticialmente aumentaría; con las moléculas pequeñas, K tendrá un valor de mayor que la unidad.

La Ecuación 28-10 puede reordenarse como

$$K = (V_e - V_o)/V_i = c_s/c_M \quad (28-11)$$

donde K es el coeficiente de distribución del soluto (véase la Ecuación 26-1). Los valores de K oscilan entre cero, para las moléculas grandes totalmente excluidas y la unidad en el caso de las moléculas pequeñas. El coeficiente de distribución es un parámetro que puede ser útil para comparar distintos rellenos. Además, esto hace posible la aplicación de todas las ecuaciones de la Tabla 26-5 a la cromatografía de exclusión por tamaño.

El intervalo útil de pesos moleculares para un determinado relleno de exclusión por tamaño, se

obtiene convenientemente a partir de una curva de calibrado como la que se muestra en la parte superior de la Figura 28-27a. En este caso, se representa el peso molecular, que está directamente relacionado con el tamaño de las moléculas de soluto, frente al volumen de retención V_R , donde V_R es el producto del tiempo de retención y el caudal volumétrico. Obsérvese que la escala en ordenadas es logarítmica. El *límite de exclusión* define el peso molecular de una especie por encima del cual no existe retención. Todas las especies que tengan pesos moleculares mayores que el límite de exclusión, son tan grandes que no se retienen, y eluyen conjuntamente para dar el pico A en el cromatograma que muestra la Figura 28-27b. El *límite de penetración* corresponde al peso molecular por debajo del cual las moléculas del soluto pueden penetrar completamente en los poros. Por debajo de este peso molecular, todas las moléculas del soluto son tan pequeñas que eluyen dando una sola banda, la indicada como D. A medida que los pesos moleculares disminuyen con respecto al límite de exclusión, las moléculas del soluto pasan cada vez más y más tiempo, en promedio, en los poros de las partículas y de este modo se mueven progresivamente con mayor lentitud. Es en la región de penetración selectiva en la que tiene lugar el fraccionamiento, dando lugar a picos de soluto individuales tales como los picos B y C del cromatograma.

Las curvas de calibrado experimentales, semejantes a las teóricas de la Figura 28-27a, se obtienen fácilmente por medio de patrones. En muchas ocasiones, estas curvas las suministran los propios fabricantes de los materiales de relleno.

28G-3. Aplicación de la cromatografía de exclusión por tamaño

Los métodos de exclusión por tamaño se dividen en cromatografía de *filtración sobre gel* y la cromatografía de *penetrabilidad sobre gel*. En el primer tipo se utilizan disolventes acuosos y rellenos hidrofílicos. En el último, se emplean disolventes orgánicos no polares y los rellenos son hidrofóbicos. Los métodos son complementarios en el sentido que en un caso se aplican a muestras hidrosolubles, y en el otro a sustancias solubles en disolventes orgánicos menos polares.

Una de las aplicaciones más útiles del procedimiento de exclusión por tamaño consiste en sepa-

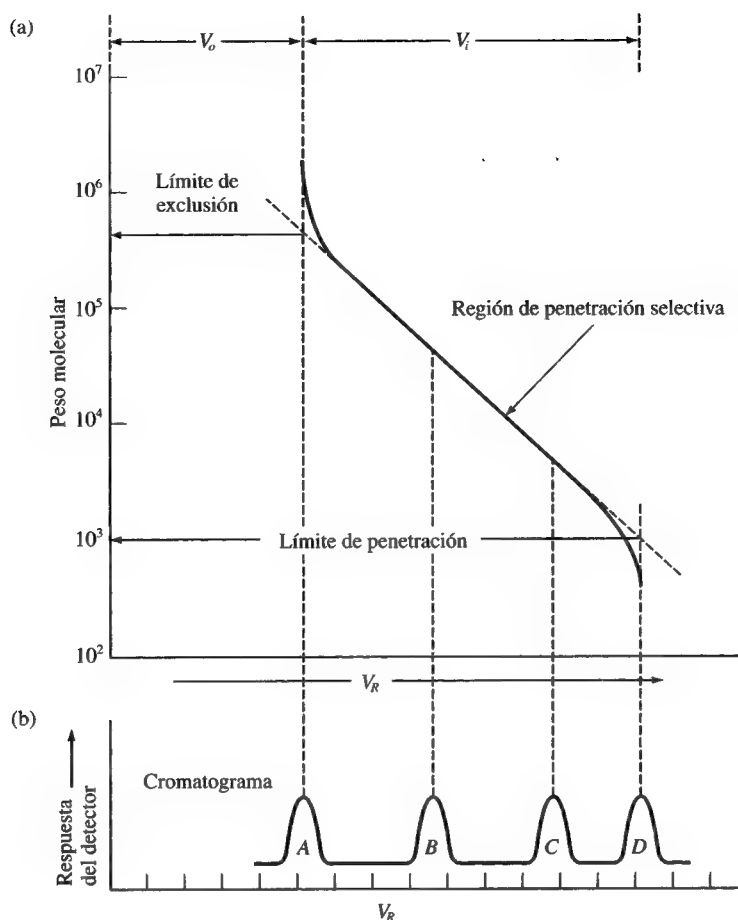


Figura 28-27. (a) Curva de calibrado en una columna de exclusión por tamaño. (b) Cromatograma mostrando el pico A que contiene todos los compuestos con pesos moleculares mayores que el límite de exclusión, los picos B y C corresponden a los compuestos dentro de la región de permeabilidad selectiva y el pico D contiene todos los compuestos de peso inferior al límite de penetración.

ración de las moléculas de alto peso molecular de productos naturales de las especies de bajo peso molecular y de las sales. Por ejemplo, un gel con un límite de exclusión de varios miles, puede separar bien las proteínas de los aminoácidos y de los péptidos de bajo peso molecular.

Otra aplicación útil de la cromatografía de *penetrabilidad en gel* es la separación de homólogos y oligómeros. Estas aplicaciones se ilustran en los ejemplos que se muestran en la Figura 28-28. El primero muestra la separación de una serie de ácidos grasos con pesos moleculares entre 116 y 344 mediante un relleno de poliestireno con un límite de exclusión por tamaño de 1.000. El segundo es el cromatograma de una resina epoxi comercial de nuevo mediante un relleno de poliestireno; en este

caso, n se refiere al número de unidades monoméricas ($P_m = 264$) en las moléculas de resina.

La Figura 28-29 ilustra una aplicación de la cromatografía de exclusión por tamaño a la determinación de glucosa, sacarosa y fructosa en cuatro tipos de zumos de fruta. El relleno, con un límite de exclusión de 1.000, era un polímero de poliestireno entrecruzado de características hidrofílicas por la incorporación de grupos sulfónicos. Una columna de 25 cm con este relleno tenía 7.600 platos a una temperatura de trabajo de 80 °C.

Otra gran aplicación de la cromatografía de exclusión por tamaño es a la determinación rápida de los pesos moleculares, o de la distribución de pesos moleculares en los grandes polímeros o en los productos naturales. En este caso, se comparan los vo-

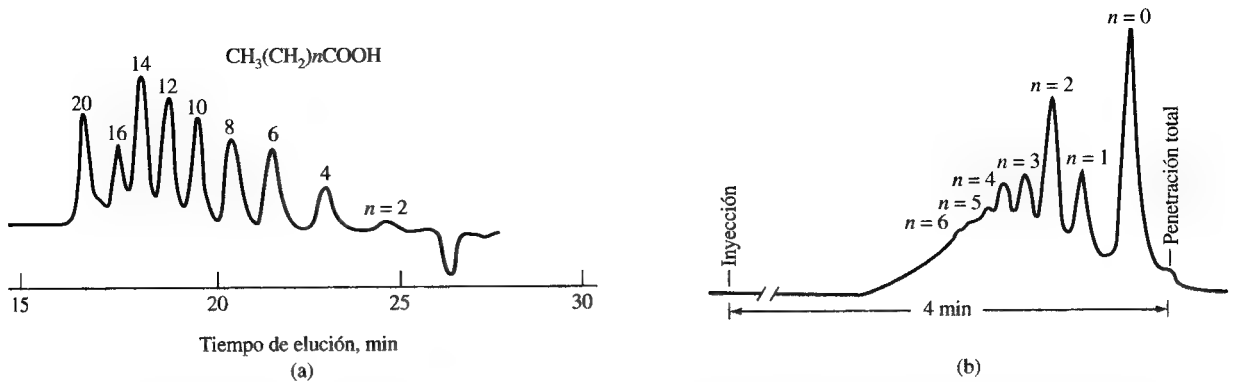


Figura 28-28. Aplicaciones de la cromatografía de exclusión por tamaño. (a) Separación de ácidos grasos. Columna: de poliestireno, de $7,5 \times 600$ mm, con un límite de exclusión por tamaño de 1×10^3 . Fase móvil: tetrahidrofurano. Caudal: 1,2 mL/min. Detector: índice de refracción. (b) Análisis de una resina epoxi comercial (n = número de unidades monoméricas en el polímero). Columna: de sílice porosa, $6,2 \times 250$ mm. Fase móvil: tetrahidrofurano. Caudal: 1,3 mL/min. Detector: absorción UV.

lúmenes de elución de la muestra con los volúmenes de elución de compuestos estándar que tengan las mismas características químicas.

Las ventajas más importantes de los procedimientos de exclusión por tamaño son: (1) tiempos

de separación cortos y bien definidos [todos los solutos salen de la columna entre V_o y $(V_o + V_i)$, véase la Ecuación 28-9 y la Figura 28-27]; (2) bandas estrechas, que conducen a una buena sensibilidad; (3) no hay pérdida de muestra, porque los solutos no

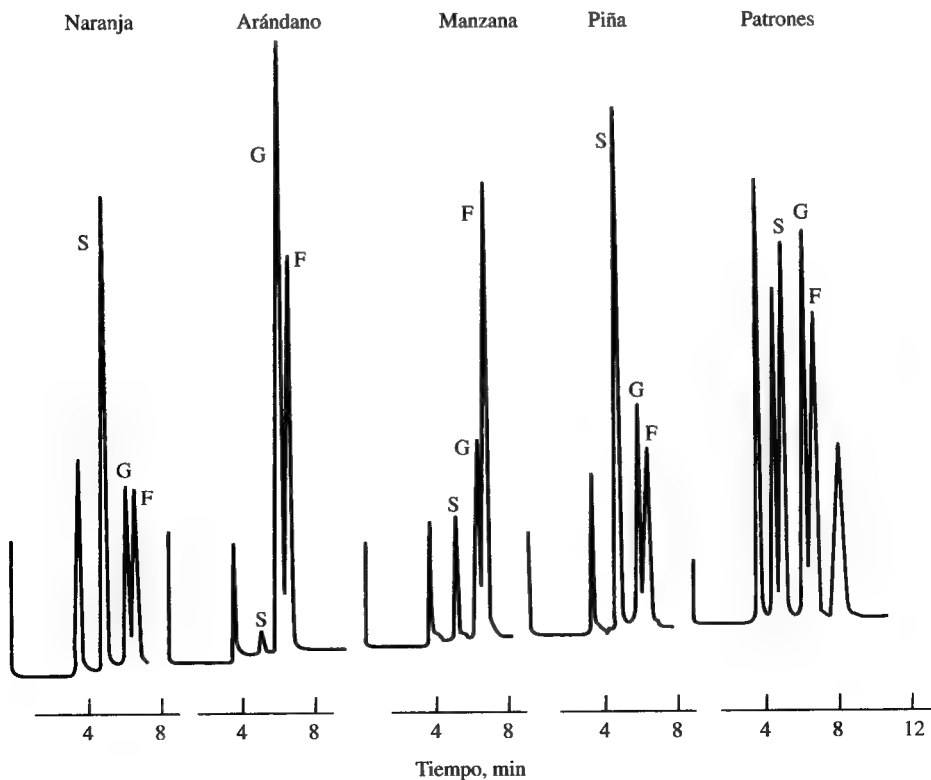


Figura 28-29. Determinación de glucosa (G), fructosa (F) y sacarosa (S) en zumos enlatados.

interaccionan con la fase estacionaria; y (4) no se desactiva la columna debido a la ausencia de interacción del soluto con el relleno.

Las desventajas son: (1) sólo se pueden acomodar un número limitado de bandas en el cromatograma debido a que la escala de tiempos es corta, y (2) no es aplicable a muestras de componentes de tamaño semejante, como las mezclas de isómeros. Por lo general, para que la resolución sea aceptable se necesita que la diferencia sea de al menos un 10 por 100 en los pesos moleculares.

28H. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

Los métodos de cromatografía en plano incluyen la *cromatografía en capa fina* (TLC), la *cromatografía en papel* (PC), y la *electrocromatografía* (EC). En todos los casos se emplea una capa plana y relativamente delgada de un material que a la vez es el soporte, o bien que recubre una superficie de vidrio, plástico o metálica. La fase móvil se mueve a través de la fase estacionaria por capilaridad, a veces ayudada por gravedad o por aplicación de un potencial eléctrico. La cromatografía en plano en algunas ocasiones se denomina cromatografía bidimensional, aunque esta descripción no es estrictamente correcta puesto que la fase estacionaria tiene un grosor definido.

En la actualidad, la cromatografía en plano se centra en la técnica de la capa fina, que es más rápida, tiene mejor resolución, y es más sensible que su alternativa en papel. Este apartado se dedica solamente a los métodos de capa fina.

28H-1. Campo de aplicación de la cromatografía en capa fina

Desde un punto de vista teórico, los tipos de fases móviles y estacionarias, así como las aplicaciones de cromatografía en capa fina son muy similares a las de la cromatografía de líquidos en columna. De hecho, una importante aplicación de la cromatografía en capa fina, y la razón por la que se incluye aquí, es la de servir de guía para el desarrollo de las condiciones óptimas para realizar separaciones por cromatografía de líquidos en columna. Las ventajas de seguir este procedimiento son la rapidez y el bajo coste de los ensayos experimentales en capa fina. De hecho, algunos cromatografistas son de la

opinión de que los ensayos en capa fina deberían preceder siempre al uso de la columna.

Además de su aplicación al desarrollo de métodos cromatográficos en columna, la cromatografía en capa fina se ha convertido en la herramienta de batalla de la industria farmacéutica para todos los controles importantes de pureza del producto. También ha encontrado un amplio uso en los laboratorios clínicos y es la piedra angular de muchos estudios bioquímicos y biológicos. Por último, encuentra una extensa aplicación en los laboratorios industriales⁴¹. Como consecuencia de las muchas y diversas áreas de aplicación, se ha estimado que al menos se realizan tantos análisis por cromatografía en capa fina como por cromatografía de líquidos de alta eficacia⁴².

28H-2. Cómo se realizan las separaciones en capa fina

Las separaciones en capa fina características se realizan en placas de vidrio o plástico que se recubren con una capa delgada y adherente de partículas finamente divididas; esta capa constituye la fase estacionaria. Las partículas son semejantes a las descritas cuando se ha tratado de la cromatografía en columna de adsorción, de reparto en fase normal y en fase inversa, de intercambio iónico y de exclusión por tamaño. Las fases móviles también son similares a las empleadas en la cromatografía de líquidos de alta eficacia en columna.

Placas de capa fina

Las placas de capa fina se obtienen de varias fuentes comerciales a unos costes que oscilan de 1 a 10 \$ por placa. Los tamaños comunes de la placa en centímetros son 5 × 20, 10 × 20 y 20 × 20. Las placas comerciales se presentan en dos categorías: la convencional y la de alta eficacia. Las primeras

⁴¹ Entre las monografías dedicadas a los fundamentos y aplicaciones de la cromatografía en capa fina se encuentran: R. Hamilton y S. Hamilton, *Thin Layer Chromatography*. New York: Wiley, 1987; B. Fried y J. Sherma, *Thin-Layer Chromatography*. 3.^a ed. New York: Marcel Dekker, 1994; J. C. Touchstone, *Practice of Thin-Layer Chromatography*, 2.^a ed. New York: Wiley, 1983. Para una breve revisión, véase D. C. Fenimore y C. M. Davis, *Anal. Chem.*, **1981**, *53*, 253A; S. J. Costanzo, *J. Chem. Educ.*, **1984**, *61*, 1015; C. F. Poole y S. K. Poole, *Anal. Chem.*, **1989**, *61*, 1257A.

⁴² T. H. Mauch II, *Science*, **1982**, *216*, 161; J. C. Touchstone, *LC-GC*, **1993**, *11*(6), 404.

tienen capas más delgadas (de 200 a 250 μm) de partículas que tienen un tamaño nominal de partícula de 20 μm o más. Las placas de alta eficacia por lo general tienen películas de unos 100 μm de espesor, y un diámetro de partícula de 5 μm o menos. Las placas de alta eficacia, como su nombre indica, permiten mejores separaciones y en menos tiempo. Así, una placa convencional presenta por lo común unos 2.000 platos teóricos en 12 cm y con un tiempo de desarrollo de 25 min. Los correspondientes valores característicos para una placa de alta eficacia son 4.000 platos teóricos en 3 cm y con 10 min de desarrollo. Las placas de alta eficacia tienen la desventaja de tener una significativamente menor capacidad de carga.

Aplicación de la muestra

La aplicación de la muestra es tal vez el aspecto más crítico de la cromatografía en capa fina, especialmente cuando se trata de medidas cuantitativas. Por lo general, se aplica una disolución de la muestra del 0,01 al 0,1 por 100, como una mancha, a 1 o 2 cm del extremo de la placa. Para una separación de mayor eficacia, la mancha debería tener un diámetro mínimo —aproximadamente 5 mm para una aplicación cualitativa y menor para el análisis cuantitativo—. En el caso de disoluciones diluidas, se realizan tres o cuatro aplicaciones superpuestas secando la zona entre aplicación y aplicación.

La aplicación manual de las muestras se realiza por contacto entre la placa y un capilar que contiene la muestra, o utilizando una jeringa hipodérmica. Comercialmente se ofrecen varios aplicadores mecánicos que mejoran la precisión y exactitud de la aplicación de la muestra.

Desarrollo de la placa

El *desarrollo de la placa* es un proceso análogo a la elución en la cromatografía de líquidos, en el que la muestra es transportada por la fase móvil a través de la fase estacionaria. La forma más común de desarrollar una placa consiste en depositar una gota de la muestra cerca de uno de los extremos de la placa, y marcar su posición con un lápiz. Una vez se ha evaporado el disolvente en el que estaba disuelta la muestra, se coloca la placa en un recipiente cerrado y saturado con los vapores del disolvente con el que se efectuará el desarrollo. Uno de los extremos de la placa se introduce en el eluyente procurando evitar el contacto directo de éste con la muestra (Fig. 28-30). El eluyente asciende por la

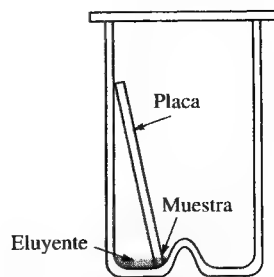


Figura 28-30. Cámara de desarrollo característica.

placa gracias al efecto de capilaridad ejercido entre las finas partículas. A medida que el eluyente se desplaza pasa por el punto de aplicación de la muestra, la disuelve y la arrastra por la placa distribuyéndose entre el disolvente que se desplaza y la fase estacionaria. Después que el disolvente ha pasado a través de la mitad o las dos terceras partes de la longitud de la placa, se retira ésta del recipiente y se seca. Las posiciones de los componentes de la muestra se determinan por cualquiera de los procedimientos habituales.

Localización de los analitos en la placa

Existen diversos procedimientos para localizar los componentes de la muestra después de la separación. Dos de los métodos que ordinariamente se utilizan con la mayoría de las mezclas de sustancias orgánicas, consisten en nebulizar sobre la placa una disolución de yodo o de ácido sulfúrico, ya que ambos reaccionan con los compuestos orgánicos para dar productos oscuros. También se utilizan otros reactivos específicos (como la ninhidrina) para localizar las especies separadas.

Otro método de detección se basa en la incorporación de un material fluorescente a la fase estacionaria. Una vez ha finalizado el desarrollo, se examina la placa bajo una luz ultravioleta. Los componentes de la muestra amortiguan la fluorescencia del material de tal forma que, toda la placa exhibe fluorescencia excepto los lugares donde se encuentran los componentes de la muestra, no fluorescentes.

La Figura 28-31 muestra el aspecto ideal que puede presentar una placa tras el desarrollo. La muestra 1 estaba constituida por dos componentes, mientras que la 2 sólo uno. En muchas ocasiones, las manchas reales sobre una placa presentan colas, lo que origina manchas que no son tan simétricas como las de la figura.

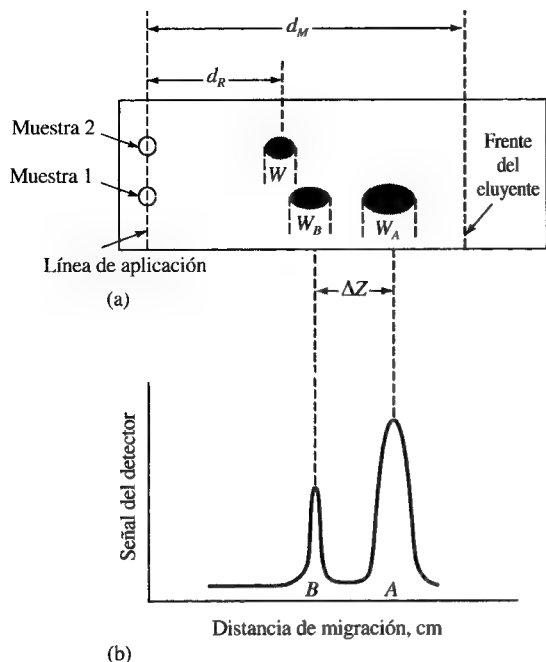


Figura 28-31. Cromatogramas de capa fina.

28H-3. Características de eficacia de las placas de capa fina

La mayoría de los parámetros y ecuaciones desarrolladas para la cromatografía en columna en la Sección 26B se pueden aplicar también, con ligeras modificaciones, a la cromatografía en capa fina, aunque se necesita un nuevo parámetro, el *factor de retardo* o R_F .

Factor de retardo

El cromatograma en capa fina de un solo soluto se muestra como el cromatograma 2 de la Figura 28-31. El factor de retardo para este soluto viene dado por

$$R_F = \frac{d_R}{d_M} \quad (28-12)$$

donde d_R y d_M son las distancias lineales medidas desde la línea de aplicación. Los valores de los R_F pueden variar desde 1 para los solutos que no se retrasan a valores que se aproximan a 0. Téngase en cuenta que si las manchas no son simétricas, como las de la Figura 28-31, la medida de d_R se basa en la posición de la intensidad máxima.

Factor de retención

Todas las ecuaciones de la Tabla 26-5 se adaptan con facilidad a la cromatografía en capa fina. A fin de poder aplicar estas ecuaciones, sólo se necesita relacionar d_R y d_M , que se definen en la Figura 28-31, con t_R y t_M , los cuales se han definido en la Figura 26-4 (página 735). Para establecer estas relaciones se considera el soluto único que aparece en el cromatograma 2 de la Figura 28-31. En este caso, t_R y t_M corresponden a los tiempos necesarios para que la fase móvil y el soluto recorran una distancia determinada, en este caso d_R . Para una fase móvil, este tiempo es igual a la distancia que recorre dividido por la velocidad lineal del disolvente u , o

$$t_M = d_R/u \quad (28-13)$$

Sin embargo, el soluto no alcanza este punto hasta que la fase móvil no ha recorrido la distancia d_M . Por tanto,

$$t_M = d_M/u \quad (28-14)$$

Sustituyendo las Ecuaciones 28-13 y 28-14 en la Ecuación 26-8 se obtiene

$$k' = \frac{d_M - d_R}{d_R} \quad (28-15)$$

El factor de retención k' también se puede expresar en función del factor de retardo reescribiendo la Ecuación 28-15 en la forma

$$k' = \frac{1 - d_R/d_M}{d_R/d_M} = \frac{1 - R_F}{R_F} \quad (28-16)$$

Los factores de retención deducidos de este modo se pueden utilizar en el desarrollo de métodos para cromatografía en columna tal como se ha descrito en el Apartado 28D-2. Por otra parte, la obtención de factores de retención por cromatografía en capa fina es, por lo general, más sencillo y más rápido que a partir de los datos obtenidos en experimentos en columna.

Alturas de plato

Las alturas de plato aproximadas para un tipo determinado de relleno también se pueden deducir para la cromatografía en capa fina. De este modo,

para la muestra 2 en la Figura 28-31, el número de platos teóricos N viene dado por la ecuación

$$N = 16 \left(\frac{d_R}{W} \right)^2 \quad (28-17)$$

donde d_R y W se definen en la figura. La altura de plato viene dada entonces por

$$H = d_R/N \quad (28-18)$$

28H-4. Aplicaciones de la cromatografía en capa fina

Cromatografía en capa fina cualitativa

Por lo general, los datos de un solo cromatograma no proporcionan la información suficiente para poder identificar las distintas especies presentes en una mezcla, debido a la variabilidad de los valores de R_F con el tamaño de la muestra, la placa de capa fina, y las condiciones existentes durante el desarrollo. Además, siempre existe la posibilidad de que dos solutos bastante diferentes puedan presentar valores de R_F idénticos o casi idénticos en unas condiciones determinadas.

Variables que afectan a los R_F . En el mejor de los casos, los valores de R_F se pueden reproducir con dos cifras significativas, aunque con varias placas, una sola cifra significativa da una idea más real de la precisión. Entre los factores más importantes que determinan la magnitud del R_F se incluyen el grosor de la fase estacionaria, la humedad que contienen las fases móvil y estacionaria, la temperatura, el grado de saturación de la cámara de desarrollo con los vapores de la fase móvil, y el tamaño de muestra. En general, no es factible un control absoluto de estas variables. Sin embargo, se puede conseguir un adecuado control de sus efectos utilizando un factor de retención relativo R_X en lugar del R_F , donde

$$R_X = \frac{\text{distancia recorrida por el analito}}{\text{distancia recorrida por una sustancia de referencia}}$$

Uso de patrones. Uno de los métodos que a menudo proporciona una identificación experimental de los componentes de la muestra, consiste en aplicar a la placa la muestra desconocida y disoluciones de muestras purificadas de las especies que probablemente pueden estar presentes en la muestra desconocida. La coincidencia entre los valores R_F de alguna de las manchas de la muestra desco-

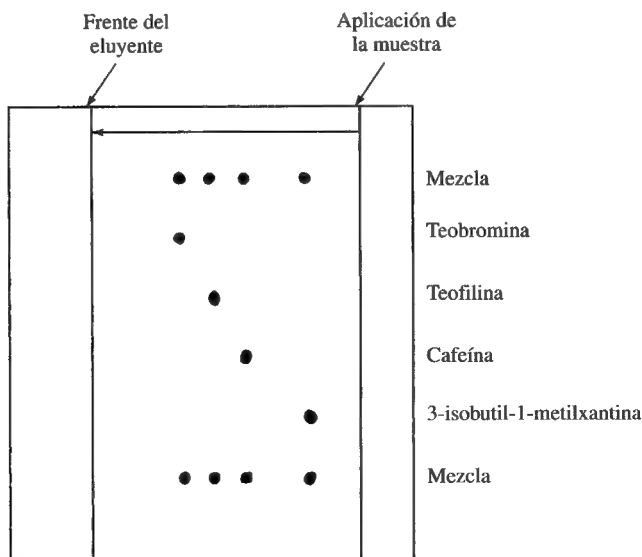


Figura 28-32. Separación de derivados de xantina en una placa de fase inversa C-18. Fase móvil: metanol/ K_2HPO_4 0,1 M (55:45 v/v). Detección: vapor de yodo. Tiempo de desarrollo: 1 hora. Valores de R_F : teobromina 0,68; teofilina 0,56; cafeína 0,44; 3-isobutil-1-metilxantina 0,21.

nocida y el de alguno de los estándares proporciona una gran evidencia para la identificación de uno de los componentes de la muestra (véase Fig. 28-32 en la página anterior). Siempre es necesario, sin embargo, una confirmación. Un ensayo de confirmación adecuado consiste en repetir el experimento con diferentes fases móviles y estacionarias, y también con distintos reactivos de revelado.

Métodos de elución. La identificación de los analitos separados también se puede confirmar o establecer raspando y disolviendo la mancha. En este caso, se raspa la zona de la placa que contiene el analito mediante una espátula o navaja, y se recoge el sólido sobre un papel satinado. A continuación se transfiere a un tubo de ensayo u otro recipiente, donde el analito se disuelve con un disolvente adecuado y se separa de la fase estacionaria por centrifugación o filtración. La identificación se realiza mediante técnicas como la espectrometría de masas, la resonancia magnética nuclear o la espectroscopia de absorción en infrarrojo.

Cromatografía en plano bidimensional. La Figura 28-33 ilustra la separación de aminoácidos de una mezcla mediante el desarrollo en dos dimensiones. La muestra se coloca en una de las esquinas de una placa cuadrada y se realiza el desarrollo en dirección ascendente con el disolvente A. A continuación se elimina este disolvente por evaporación, y se gira la placa 90 grados, realizando ahora el desarrollo ascendente con el disolvente B. Tras la eliminación del disolvente, se determina la posición de los aminoácidos nebulizando la placa con ninhidrina, reactivo que forma un producto con los aminoácidos de color rosa a púrpura. Las manchas originadas se identifican comparando sus posiciones con las de los estándares.

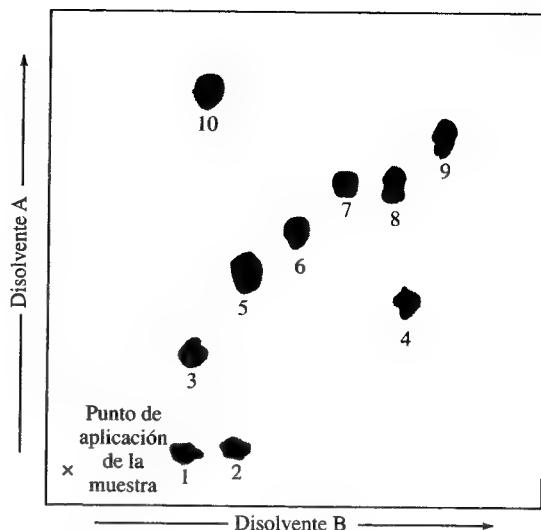


Figura 28-33. Cromatograma en capa fina bidimensional (gel de sílice) de algunos aminoácidos. Disolvente A: tolueno/2-cloroetanol/piridina. Disolvente B: cloroformo/alcohol bencílico/ácido acético. Aminoácidos: (1) ácido aspártico, (2) ácido glutámico, (3) serina, (4) β -alanina, (5) glicina, (6) alanina, (7) metionina, (8) valina, (9) isoleucina y (10) cisteína.

Análisis cuantitativo

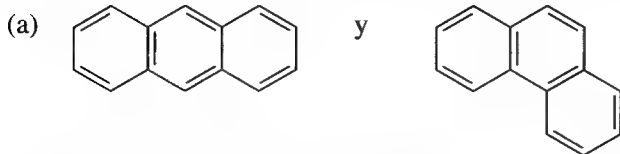
Comparando el área de la mancha del estándar con la del analito, se puede hacer una estimación semicuantitativa de la cantidad del componente presente. Los mejores resultados se obtienen si se raspa la mancha de la placa, se extrae el analito del sólido que forma la fase estacionaria, y se determina el analito por algún método físico o químico adecuado. Un tercer procedimiento consiste en utilizar un densitómetro de barrido que puede medir la radiación emitida de la mancha por fluorescencia o reflexión.

281. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 28-1.** Enumerar los tipos de sustancias a los cuales se aplican fundamentalmente los siguientes tipos de cromatografía:
- Gas-líquido.
 - Reparto entre líquidos.
 - Reparto en fase inversa.
 - Intercambio iónico.
 - Penetrabilidad sobre gel.
 - Filtración sobre gel.

- (g) Gas-sólido.
 - (h) Adsorción (líquido-sólido).
 - (i) Pares iónicos.
- 28-2. Describir tres métodos generales para mejorar la resolución en la cromatografía de reparto.
- 28-3. Describir una forma de modificar el factor de retención de un soluto en la cromatografía de reparto.
- 28-4. ¿Cómo se puede modificar el factor de selectividad en: (a) la cromatografía de gases y (b) la cromatografía de líquidos?
- 28-5. Al preparar un gradiente con benceno/acetona para una columna de HPLC de alúmina, ¿es deseable aumentar o disminuir la proporción de benceno, a medida que progresa la elución en la columna?
- 28-6. Definir los, siguientes términos:
- (a) Purga.
 - (b) Elución isocrática.
 - (c) Elución con gradiente.
 - (d) Inyección a flujo detenido.
 - (e) Relleno pelicular.
 - (f) Ensanchamiento extracolumna.
 - (g) Relleno de fase inversa.
 - (h) Relleno de fase normal.
 - (i) Detector de propiedades de la disolución.
 - (j) Detector de propiedades del soluto.
 - (k) Electroforesis con micelas.
- 28-7. ¿Qué se entiende por intervalo de respuesta lineal de un detector?
- 28-8. ¿Qué es la precolumna en la cromatografía de reparto?
- 28-9. ¿En qué se parecen la cromatografía de reparto en fase normal y la cromatografía de adsorción?
- 28-10. Enumerar las características deseables para los detectores de HPLC.
- 28-11. Describir algunas de las técnicas que se utilizan para acoplar un cromatógrafo de líquidos con un espectrómetro de masas.
- 28-12. Enumerar las distintas propiedades y funciones de la fase móvil en la cromatografía de gases y en la de líquidos. ¿Cómo influyen esas diferencias en las características de los dos métodos?
- 28-13. En una columna de reparto en fase normal, se encuentra que un soluto tiene un tiempo de retención de 29,1 min, mientras que una muestra no retenida tiene un tiempo de retención de 1,05 min cuando la fase móvil es un 50 por 100 en volumen de cloroformo y 50 por 100 en *n*-hexano. Calcular (a) k' para el soluto y (b) la composición de disolventes que condujera a un valor de k' de aproximadamente 10.
- 28-14. La mezcla de disolventes del Problema 28-13 no proporciona una separación satisfactoria de los dos solutos. Sugerir cómo puede modificarse la fase móvil para mejorar la resolución.

28-15. Sugerir un tipo de cromatografía líquida que fuera adecuado para la separación de



(b) $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ y $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$.

(c) Ba^{2+} y Sr^{2+} .

(d) $\text{C}_4\text{H}_9\text{COOH}$ y $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{COOH}$.

(e) Glucósidos de alto peso molecular.

28-16. ¿Qué es una columna supresora y para qué se emplea?

28-17. En una columna de gel de sílice, se encuentra que un compuesto tiene un tiempo de retención de 28 min cuando la fase móvil es tolueno. ¿Qué disolvente, tetracloruro de carbono o cloroformo, sería más probable que acortase el tiempo de retención? Justifíquese la respuesta.

28-18. En una separación en fase normal, predecir el orden de elución de

(a) *n*-hexano, *n*-hexanol, benceno.

(b) Acetato de etilo, dietiléter, nitrobutano.

28-19. Para una separación en fase inversa, predecir el orden de elución de los solutos del Problema 28-18.

28-20. Estimar la constante de distribución de los compuestos B y C en la Figura 28-27, si el volumen de retención para el compuesto A es 5,1 mL y para el compuesto D es de 14,2 mL.

28-21. ¿Qué es un cromatograma de masas y cómo se obtiene?

28-22. Dos picos cromatográficos tienen anchuras de pico promedio de 9 s con un caudal de 2,5 mL/min. ¿Cuál es el volumen máximo de muestra que puede tomarse para que la pérdida de resolución sea menor que (a) 5 por 100 y (b) 20 por 100.

Capítulo 29

Cromatografía y extracción con fluidos supercríticos

Durante las dos décadas pasadas se han desarrollado dos técnicas nuevas y prometedoras basadas en el empleo de fluidos supercríticos, que desempeñarán un papel importante en el análisis de muestras ambientales, biomédicas y de alimentos. Estos métodos son la **cromatografía de fluidos supercríticos (SFC)** y la **extracción con fluidos supercríticos (SFE)**. En la última década se han comercializado equipos instrumentales para ambas técnicas y su empleo parece estar creciendo rápidamente en la comunidad analítica. En este capítulo se describe el fundamento, la instrumentación y las aplicaciones de ambos métodos.

29A. PROPIEDADES DE LOS FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

La *temperatura crítica* de una sustancia es la temperatura por encima de la cual no puede existir en fase líquida independientemente de la presión. La presión de vapor de una sustancia a su temperatura crítica es su *presión crítica*. Una sustancia a temperaturas y presiones por encima de su temperatura y

de su presión crítica (*punto crítico*) se denomina *fluido supercrítico*. Los fluidos supercríticos tienen densidades, viscosidades y otras propiedades que son intermedias entre las características de esa sustancia en estado gaseoso y en estado líquido. La Tabla 29-1 compara algunas propiedades de los fluidos supercríticos con las de gases y líquidos típicos. Las propiedades seleccionadas son aquellas que son significativas para la cromatografía de gases, líquidos y fluidos supercríticos, así como para la extracción con fluidos supercríticos.

La Tabla 29-2 relaciona las propiedades de cuatro de las cerca de dos docenas de compuestos que han sido empleados como fases móviles en cromatografía de fluidos supercríticos. Obsérvese que sus temperaturas críticas y las presiones a estas temperaturas quedan dentro de las condiciones habituales de trabajo en HPLC.

Una propiedad importante de los fluidos supercríticos, que está relacionada con sus densidades elevadas (de 0,2 a 0,5 g/cm³), es su notable capacidad para disolver moléculas grandes no volátiles. Por ejemplo, el dióxido de carbono supercrítico disuelve fácilmente *n*-alcanos que poseen entre 5 y 30 átomos de carbono, ftalatos de di-*n*-alquilo en los cuales los grupos alquilo contienen entre 4 y 16 átomos de carbono y diversos hidrocarburos aro-

TABLA 29-1. Comparación de las propiedades de los fluidos supercríticos con las de gases y líquidos (los datos indican sólo el orden de magnitud)

	Gas	Fluido supercrítico	Líquido
Densidad (g/cm ³)	$(0,6-2) \times 10^{-3}$	0,2-0,5	0,6-2
Coefficiente de difusión (cm ² /s)	$(1-4) \times 10^{-1}$	$10^{-3}-10^{-4}$	$(0,2-2) \times 10^{-5}$
Viscosidad (g cm ⁻¹ s ⁻¹)	$(1-3) \times 10^{-4}$	$(1-3) \times 10^{-4}$	$(0,2-3) \times 10^{-2}$

máticos policíclicos que presentan varios anillos. Es digno de señalarse que ciertos procesos industriales importantes se basan en la elevada solubilidad de las especies orgánicas en dióxido de carbono supercrítico. Por ejemplo, para la extracción de la cafeína de los granos de café y obtener el café descafeinado o de la nicotina del tabaco se ha empleado este fluido supercrítico.

Una segunda propiedad notable de los fluidos supercríticos es que los analitos disueltos en ellos pueden ser fácilmente recuperados por el procedimiento simple de permitir que las disoluciones se equilibren con la atmósfera a temperaturas relativamente bajas. Así, un analito disuelto en dióxido de carbono supercrítico, que es el usado más frecuentemente como disolvente, puede ser recuperado sencillamente reduciendo la presión y dejando que el fluido se evapore en las condiciones ambientales del laboratorio. Esta propiedad es particularmente importante en el caso de que los analitos termolábiles. Otra ventaja de muchos de los fluidos supercríticos es que son baratos, inocuos y no son sustancias tóxicas, por lo que se pueden dejar evaporar libremente en la atmósfera sin efectos ambientales dañinos. El dióxido de carbono como fluido supercrítico es especialmente útil tanto para extracciones como para cromatografía. Además, los fluidos supercríticos tienen la ventaja de que las difusividades de los solutos en ellos son un orden

de magnitud más altas que en los líquidos y que las viscosidades son un orden de magnitud más bajas que las de los disolventes líquidos. Como se mostrará en este capítulo, estas dos últimas ventajas son importantes, tanto en la cromatografía como en las extracciones con fluidos supercríticos.

29B. CROMATOGRAFÍA DE FLUIDOS SUPERCRTICOS

La cromatografía de fluidos supercríticos (SFC) es una modalidad híbrida entre la cromatografía de gases y la cromatografía de líquidos que combina alguna de las mejores características de cada una de ellas¹. Esta técnica es uno de los tres tipos importantes de cromatografía en columna que está empezando a tener una gran aplicación en muchos laboratorios de la industria, de control y docentes. En 1985, varios fabricantes de instrumentos empezaron a ofertar equipos especialmente diseñados

¹ Para artículos de revisión sobre esta técnica, véase: M. D. Palmieri, *J. Chem. Educ.*, **1988**, 65, A254; **1989**, 66, A141; P. R. Griffiths, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, 593A; R. D. Smith, B. W. Wright y C. R. Yonker, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, 1323A, M. L. Lee y K. E. Markides, *Science*, **1987**, 235, 1342. Para monografías sobre esta técnica, véase: *Supercritical Fluid Chromatography*, R. M. Smith, Ed. London: The Royal Society of Chemistry, 1988; C. M. White, *Modern Supercritical Fluid Chromatography*. Heidelberg, RFA: Alfred Huethig Verlag, 1988.

TABLA 29-2. Propiedades de algunos fluidos supercríticos*

Fluido	Temperatura crítica, °C	Presión crítica, atm	Densidad en el punto crítico, g/mL	Densidad a 400 atm, g/mL
CO ₂	31,3	72,9	0,47	0,96
N ₂ O	36,5	71,7	0,45	0,94
NH ₃	132,5	112,5	0,24	0,40
n-Butano	152,0	37,5	0,23	0,50

* Reproducción autorizada de M. L. Lee y K. E. Markides, *Science*, **1987**, 235, 1345.

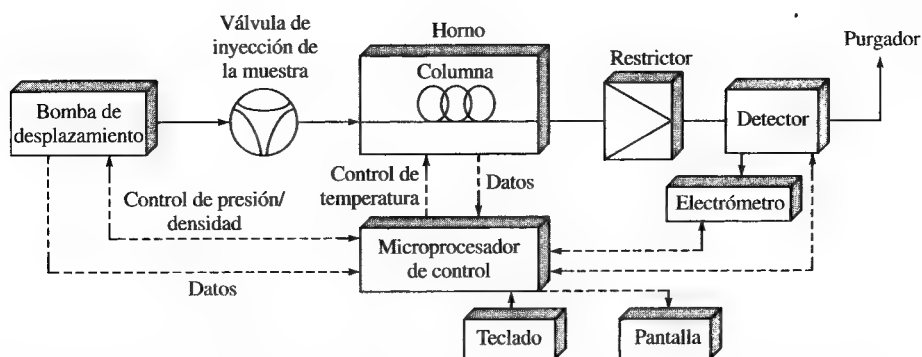


Figura 29-1. Diagrama esquemático del equipo instrumental de cromatografía de fluidos supercríticos

para el desarrollo de la cromatografía de fluidos supercríticos y durante los últimos años el empleo de estos equipos se ha expandido a pasos agigantados.

La cromatografía de fluidos supercríticos es de gran importancia porque permite la separación y determinación de un grupo de compuestos que no son manipulados convenientemente ni por la cromatografía de gases ni por la de líquidos. Estos compuestos son: (1) los compuestos no volátiles o térmicamente lábiles para los que la cromatografía de gases es inaplicable y (2) los compuestos que tienen grupos funcionales que no son detectables por las técnicas espectroscópicas o electroquímicas empleadas en cromatografía de líquidos. Chester ha calculado que hasta de un 25 por 100 del total de los problemas de separaciones a los que hacen frente los químicos de hoy día son mezclas que contienen tales especies de difícil tratamiento².

29B-1. Instrumentación y variables de operación

Como ya se ha mencionado anteriormente, las presiones y las temperaturas necesarias para originar los fluidos supercríticos a partir de los diversos gases y líquidos se ajustan bien dentro de los límites de trabajo de un equipo de HPLC corriente. Así, como se muestra en la Figura 29-1, los equipos instrumentales para la cromatografía de fluidos supercríticos son bastante parecidos en lo referente a los componentes instrumentales a los equipos de HPLC, descritos en el Aparado 28C. Existen, sin embargo, dos diferencias importantes entre ellos. Primero, es necesario un horno, similar al emplea-

do en cromatografía de gases (Apartado 27B-3), para mantener la columna termostatzada y además, proporcionar un control preciso de la temperatura de la fase móvil; segundo, un restrictor o un dispositivo de contrapresión, que se utiliza para mantener la presión en la columna en el nivel deseado y para convertir el eluyente, de fluido supercrítico en un gas, y arrastrarlo al detector. Un restrictor típico para una columna tubular abierta de 50 a 100 μm consiste en un capilar de 2 a 10 cm de longitud y 5 a 10 μm de diámetro, el cual está directamente unido al extremo final de la columna. En otros casos, el restrictor puede ser una parte integrante de la columna formado por el alargamiento del extremo de la columna al calentar ésta en una llama. El primero permite el empleo de restrictores intercambiables que tengan diámetros de entrada diferentes, proporcionando así un intervalo de caudales para cualquier presión de bombeo dada.

Como se muestra en la Figura 29-1, un instrumento comercial de SFC está equipado habitualmente con uno o más microprocesadores que permiten el control de las variables instrumentales tales como la presión de bombeo, la temperatura del horno y el funcionamiento del detector.

Efectos de la presión

Las variaciones de presión en cromatografía de fluidos supercríticos tienen un efecto muy marcado sobre el factor retención o de capacidad, k' . Este efecto es una consecuencia del incremento de la densidad de la fase móvil a medida que aumenta la presión. Tal incremento de la densidad origina un aumento de la capacidad disolvente de la fase móvil, lo cual acorta los tiempos de elución. Sirva como ejemplo del efecto del incremento de la pre-

² T. L. Chester, *J. Chromatogr. Sci.*, **1986**, 24, 226.

sión que cuando la presión del dióxido de carbono en una columna rellena aumenta de 70 a 90 atmósferas, el tiempo de elución del hexadecano disminuye de 25 a 5 minutos. Este efecto es general y produce resultados análogos a los que se obtienen aplicando un gradiente de elución en cromatografía de líquidos. La Figura 29-2 ilustra la mejora que se alcanza en los cromatogramas cuando se lleva a cabo una programación de la presión. La mayoría de los perfiles de presión utilizados normalmente en cromatografía de fluidos supercríticos son: presión constante (isobárico) para un período de tiempo dado seguidos de un aumento lineal o asintótico de la presión hasta alcanzar el valor de la presión final.

Fases estacionarias

En SFC se emplean tanto las columnas abiertas como las columnas rellenas, aunque normalmente las primeras son las más empleadas. Las columnas abiertas son similares a las columnas de sílice fundida descritas en el Apartado 27C-1 con recubrimientos internos de varios tipos de siloxanos enlazados y de enlaces cruzados. Las columnas tienen normalmente una longitud de 10 a 20 m y un diámetro interno de 0,05 a 0,10 mm. El espesor de la película varía entre 0,05 y 1 μm . Las columnas rellenas semejantes a las utilizadas en cromatografía de reparto, también se utilizan en SFC. Estas columnas tienen diámetros que varían entre 0,5 mm o

menos y 4,6 mm, con diámetros de partícula que oscilan entre 3 y 10 μm . Los recubrimientos son similares a los utilizados en HPLC de reparto.

Fases móviles

La fase móvil utilizada más ampliamente en cromatografía de fluidos supercríticos es el dióxido de carbono. Es un disolvente excelente para un conjunto de moléculas orgánicas no polares. Además, es una sustancia transparente en el ultravioleta, es inolora, no tóxica, fácilmente disponible y muy barata cuando se compara con otras fases móviles cromatográficas. La temperatura crítica del dióxido de carbono es 31 °C y su presión crítica 72,9 atmósferas, lo cual permite jugar con una banda amplia de temperaturas y presiones sin superar las condiciones de operación de un equipo de HPLC moderno. En algunas aplicaciones, en concreto con analitos polares, se pueden introducir modificadores polares orgánicos como el metanol, en pequeñas concentraciones (≈ 1 por 100), para modificar los valores de α de los analitos.

Un gran número de sustancias como etano, butano, óxido nitroso, diclorodifluorometano, éter dietílico, amoníaco y tetrahidrofurano han sido utilizadas como fases móviles de cromatografía de fluidos supercríticos.

Detectores

La principal ventaja de la SFC frente al HPLC es que se pueden utilizar como en la cromatografía de gases, detectores de ionización de llama. Como se indica en el Apartado 27B-4, este detector es de *respuesta universal* a compuestos orgánicos, de elevada sensibilidad y exento de problemas, en general. Los espectrómetros de masas también se pueden adaptar como detectores más fácilmente para SFC que para HPLC. Muchos de los detectores utilizados en cromatografía de líquidos se emplean también en SFC, entre ellos detectores de absorción en el ultravioleta y en el infrarrojo, de emisión de fluorescencia, termoiónico y fotométrico de llama.

29B-2. Comparación de la cromatografía de fluidos supercríticos con otros tipos de cromatografía

Los datos de las Tablas 29-1 y 29-2 ponen de manifiesto que varias propiedades de los fluidos super-

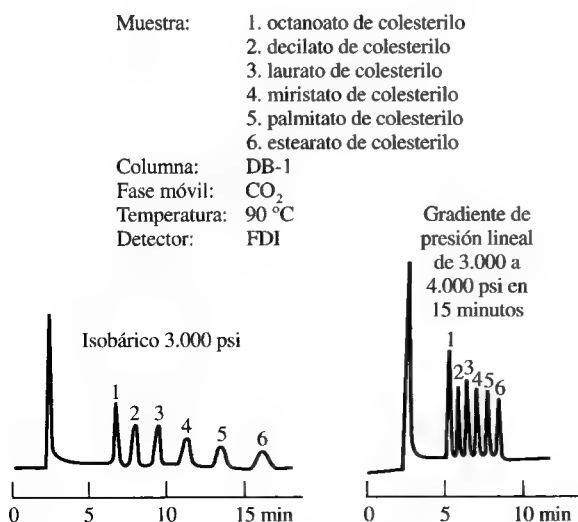


Figura 29-2. Efecto de la programación de la presión en cromatografía de fluidos supercríticos. (Cortesía de Brownlee Labs., Santa Clara, CA.)

críticos son intermedias entre las de los gases y las de los líquidos. En consecuencia, este nuevo tipo de cromatografía combina algunas de las características tanto de la cromatografía de gases como de la de líquidos. Por ejemplo, al igual que en la cromatografía de gases, la cromatografía de fluidos supercríticos es intrínsecamente más rápida que la cromatografía de líquidos debido a que la viscosidad más baja hace posible obtener velocidades de flujo más elevadas. Las velocidades de difusión en la cromatografía de fluidos supercríticos son intermedias entre las de los gases y las de los líquidos. En consecuencia, el ensanchamiento de banda es mayor en los fluidos supercríticos que en los líquidos, pero menor que en los gases. Las difusividades y las viscosidades intermedias de los fluidos supercríticos deberían, en teoría, dar lugar a separaciones más rápidas que las que se obtienen con la cromatografía de líquidos, a la vez que deberían acompañarse de un ensanchamiento de zona más bajo que el que se obtiene en cromatografía de gases.

Las Figuras 29-3 y 29-4 comparan las características de resolución de una columna rellena cuando la elución se desarrolla con dióxido de carbono supercrítico y una fase móvil líquida convencional. En la Figura 29-3 se puede ver que a una velocidad

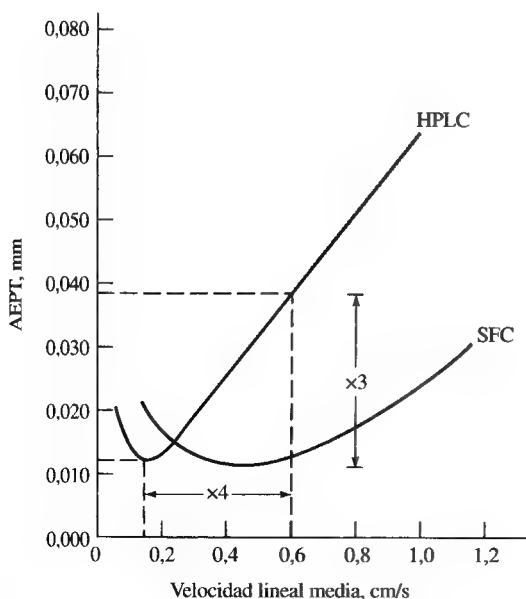


Figura 29-3. Eficacia de una columna de ODS de 5 μ m cuando se lleva a cabo la elución con una fase móvil convencional (HPLC) y dióxido de carbono supercrítico SFC. (Reproducción autorizada de D. R. Gere, Aplicación 800-3, Hewlett-Packard, 1983.)

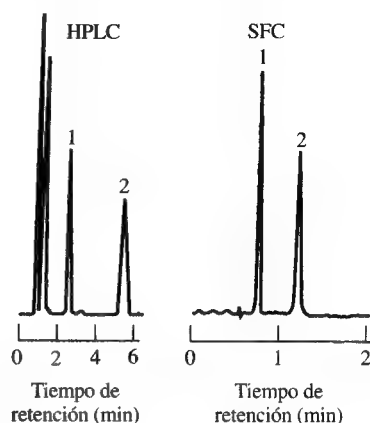


Figura 29-4. Comparación entre los cromatogramas obtenidos por cromatografía de reparto convencional (HPLC) y cromatografía de fluidos supercríticos (SFC). Columna: 20 cm $\times$ 4,6 mm rellena con una fase inversa enlazada químicamente de 10 μ m. Analitos: (1) bifenilo, (2) terfenilo. Para la HPLC: la fase móvil fue $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$, 65/35 por 100; caudal, 4 mL/min; velocidad lineal, 0,55 cm/s; tamaño de la muestra 10 μ L. Para la SFC: la fase móvil fue CO_2 ; caudal, 5,4 mL/min; velocidad lineal, 0,76 cm/s, tamaño de la muestra, 3 μ L. (Reproducción autorizada de D. R. Gere, T. J. Stark y T. N. Twesten, Aplicación 800-4, Hewlett-Packard, 1983.)

lineal de la fase móvil de 0,6 cm/s, la columna del equipo de SFC rinde una altura de plato de 0,013 mm mientras que la altura de plato con un eluyente líquido es tres veces mayor, esto es 0,039 mm. Y así, debería obtenerse una reducción de la anchura de pico por un factor de 3. Por otra parte, hay una ganancia de 4 en la velocidad lineal a la altura de plato correspondiente al mínimo de la curva en HPLC; esta ganancia tendría como resultado una reducción de los tiempos de análisis a la cuarta parte. Estas ventajas se reflejan en los cromatogramas que se muestran en la Figura 29-4.

Es digno de comparar el papel de la fase móvil en cromatografía de gases, de líquidos y en cromatografía de fluidos supercríticos. Normalmente, en la cromatografía de gases, la fase móvil sirve a un único propósito, para el desplazamiento de zona. Como ya se ha visto en el Capítulo 28, en la cromatografía de líquidos, la fase móvil sirve no sólo para el transporte de los solutos, sino que también interacciona con ellos modificando los factores de selectividad (α). Cuando una molécula se disuelve en un medio supercrítico, el proceso se parece a la volatilización, pero como si ésta se llevara a cabo a una temperatura mucho más baja de la que normalmente se utilizaría en cromatografía de gases. Así, a una temperatura dada la presión de vapor de una

molécula grande en un fluido supercrítico puede ser 10^{10} veces mayor que en ausencia de este fluido. Por tanto, los compuestos de elevado peso molecular, especies térmicamente inestables, polímeros y moléculas grandes de interés biológico pueden ser eludidas de la columna a temperaturas relativamente bajas. Pueden producirse interacciones entre las moléculas de soluto y las moléculas de un fluido supercrítico teniendo en cuenta la solubilidad de aquéllas en estos medios. El poder disolvente es por ello función de la composición química y de la densidad del fluido. Por tanto, y a diferencia de lo que sucede en la cromatografía de gases, existen posibilidades de modificar α al cambiar la fase móvil.

La Figura 29-5 compara el campo de aplicación de la cromatografía de fluidos supercríticos con la cromatografía de gases y la cromatografía de reparto de líquidos y la cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Obsérvese, que tanto la cromatografía de líquidos como la de fluidos supercríticos son aplicables a la separación de moléculas con intervalos de pesos moleculares de varios órdenes de magnitud mayores que al que es aplicable la cromatografía de gases. Como ya se ha señalado con anterioridad, la cromatografía de exclusión por tamaño puede aplicarse para la separación de moléculas aún más grandes.

29B-3. Aplicaciones

Hasta ahora, la cromatografía de fluidos supercríticos se ha aplicado a la separación de un amplio

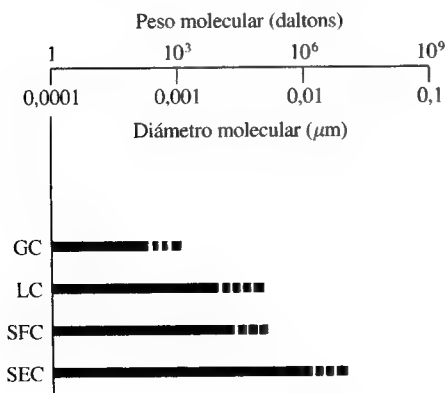


Figura 29-5. Intervalo de pesos moleculares y tamaños en los que pueden aplicarse diferentes técnicas cromatográficas en columna. (Reproducción autorizada de M. L. Lee y K. E. Markide, *Science*, 1987, 235.)

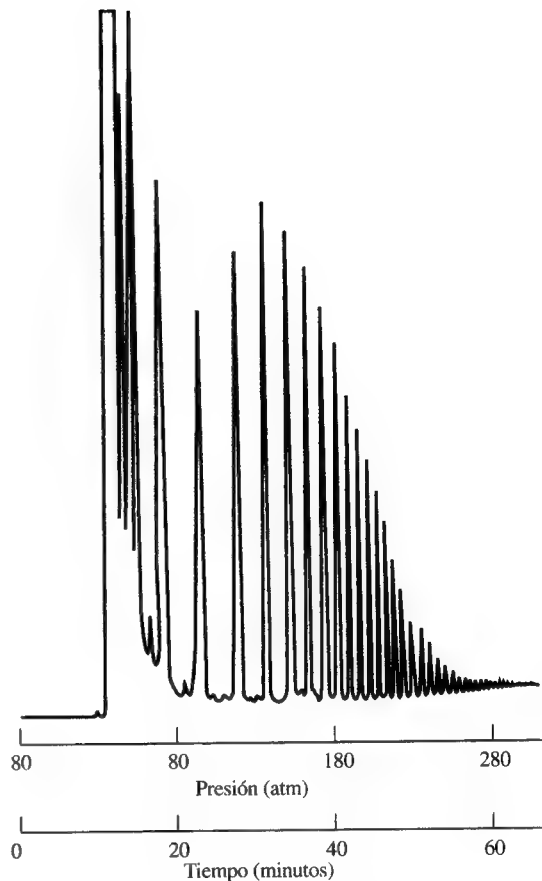


Figura 29-6. Separación de los oligómeros de dimetilpolisiloxano por cromatografía de fluidos supercríticos. (Reproducción autorizada de C. M. White y R. K. Houck, *HCR y CC*, 1986, 9, 4.)

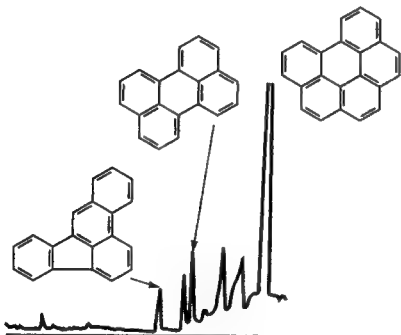
conjunto de sustancias, entre los que se cuentan productos naturales, fármacos, alimentos, pesticidas y herbicidas, tensioactivos, polímeros, aditivos de polímeros, combustibles fósiles y explosivos y propelentes. Las Figuras 29-6, 29-7 y 29-8 muestran tres típicas y diversas aplicaciones de SFC. La Figura 29-6 ilustra la separación de una serie de diversos oligómeros de metilpolisiloxano cuyos pesos moleculares están comprendidos entre 400 y 700 Da. Este cromatograma fue obtenido utilizando una columna capilar de sílice fundida de 10 m $\times$ 100 μm de diámetro interno y recubierta con una película de fenil polisiloxano al 5 por 100 y de 0,25 μm de espesor. La fase móvil utilizada fue de CO_2 a 140 $^{\circ}\text{C}$ y se utilizó la siguiente programación de presión: 80 atmósferas durante 20 minutos, seguido de un gradiente lineal de 80 a 280 atmósfe-

ras a razón de 5 atm/min. Se utilizó un detector de ionización de llama.

La Figura 29-7 muestra la separación de hidrocarburos aromáticos policíclicos extraídos del carbón. La detección se llevó a cabo mediante excitación de la fluorescencia a dos longitudes de onda diferentes. Obsérvese la selectividad aportada por esta técnica. El cromatograma fue obtenido utilizando una columna capilar de sílice fundida de $40 \text{ m} \times 50 \text{ }\mu\text{m}$ de diámetro interno y recubierta con una película de fenil polisiloxano al 50 por 100 y de $0,25 \text{ }\mu\text{m}$ de espesor. La fase móvil utilizada fue pentano a $210 \text{ }^\circ\text{C}$ y seguida de la siguiente programación: la densidad inicial de la fase móvil se sitúa a $0,07 \text{ g/mL}$ durante 24 minutos, y después un programa de aumento asintótico de la densidad hasta llegar a $0,197 \text{ g/mL}$.

La Figura 29-8 ilustra la separación de los oligómeros de una muestra del tensioactivo no iónico Triton X-100. La detección implica la medida de la corriente iónica producida por ionización química en espectrometría de masas. La fase móvil fue dióxido de carbono que contiene un 1 por 100 en volumen de metanol. La columna utilizada fue una co-

Excitación
a 400 nm



Excitación
a 335 nm

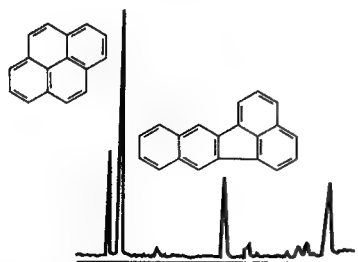


Figura 29-7. Porciones del cromatograma de fluidos supercríticos de los hidrocarburos aromáticos policíclicos presentes en una muestra de carbón y que demuestra la selectividad obtenida con un detector de fluorescencia que opera a dos longitudes de onda de excitación. (Reproducción autorizada de C. M. White y R. K. Houck, HCR y CC, 1986, 9, 4.)

Triton X-100
 CO_2 $100 \text{ }^\circ\text{C}$
 $100 \text{ }\mu\text{m}$ (diámetro
interno) $\times 30 \text{ m}$
sin división

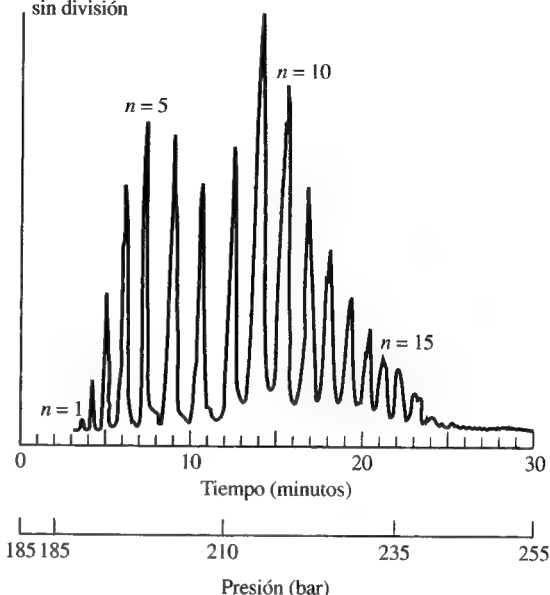
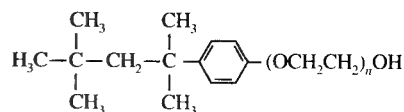


Figura 29-8. Cromatogramas del tensioactivo no iónico Triton X-100 con detección de espectrometría de masas de corriente total. (Reproducción autorizada de R. D. Smith y H. R. Udseth, Anal. Chem., 1987, 59, 17. Copyright 1987 American Chemical Society.)

lumna capilar de 30 m que está recubierta con una película de $1 \text{ }\mu\text{m}$ de fenilpolisiloxano al 5 por 100. La presión de la columna se incrementó linealmente a una velocidad de $2,5 \text{ bares/minuto}$.

En la literatura³ más reciente se pueden encontrar varias revisiones sobre las aplicaciones de la cromatografía de fluidos supercríticos.

29C. EXTRACCIÓN CON FLUIDOS SUPERCRTICOS

Los análisis de materiales complejos requieren, con frecuencia, como paso previo, la separación del analito o analitos de la matriz en que se encuentra la muestra. Un método analítico de separación, idealmente, debería ser rápido, sencillo y barato; debería producir recuperaciones cuantitativas de los analitos sin pérdidas o degradaciones; debería

³ T. L. Chester y J. D. Pinkston, Anal. Chem., 1990, 62, 394R; M. D. Palmieri, J. Chem. Educ., 1989, 66, A141; C. M. White y R. K. Houk, HRC and CC, 1986, 9(1), 4.

rendir una disolución de analito que estuviera lo suficientemente concentrada como para permitir la medida final sin que sean necesarios procesos de concentración; y debería generar pocos o nulos productos de deshecho que tengan que ser eliminados o reciclados.

Durante muchos años, uno de los métodos más comunes para llevar a cabo separaciones analíticas en muestras complejas de origen medioambiental, farmacéutico, alimentario y de petróleos se basan en la extracción de las muestras con disolventes orgánicos clorados o hidrocarburos mediante un extractor Soxhlet. Desafortunadamente, las extracciones con líquidos no poseen las cualidades que se han referido en el párrafo previo. Estos procedimientos necesitan, normalmente, varias horas o más para obtener recuperaciones del analito satisfactorias y aun así algunas veces no se consiguen. Los costes de los disolventes son, con frecuencia, elevados. Las disoluciones de los analitos recuperados son, a menudo, tan diluidas que tras la extracción debe llevarse a cabo un proceso de concentración que puede ir acompañado de la degradación y de la pérdida de analito, así como de la contaminación del mismo.

A mediados de los años ochenta, los químicos empezaron a investigar el empleo de los fluidos supercríticos para la separación de los analitos de la matriz de muchas muestras de interés tanto para la industria como para organismos oficiales, debido a que el uso de reactivos de este tipo evitaría muchos de los problemas descritos en los párrafos precedentes y relativos al empleo de disolventes orgánicos como líquidos extractivos⁴.

29C-1. Ventajas de la extracción con fluidos supercríticos

En este apartado se detallan una serie de ventajas de las extracciones con fluidos supercríticos (SFE).

1. La SFE, en general, es rápida. La velocidad de transferencia de masa entre la matriz, la mues-

tra y un fluido de extracción se determina por la velocidad de difusión de la especie en el fluido y por la viscosidad del fluido; a mayor velocidad de difusión y más reducida viscosidad, la velocidad de transferencia de masa será mayor. Como ya se ha señalado anteriormente, ambas variables son más favorables para los fluidos supercríticos que para un disolvente líquido típico. En consecuencia, la extracción con fluidos supercríticos se completa, generalmente, entre 10 y 60 minutos, mientras que las extracciones con líquidos orgánicos pueden necesitar varias horas e incluso días.

2. El poder disolvente de un fluido supercrítico puede modificarse por los cambios en la presión y, con menor alcance, en la temperatura. Por el contrario el poder disolvente para un líquido orgánico es esencialmente constante e independiente de las condiciones. Esta propiedad permite que las condiciones para la extracción con fluidos supercríticos puedan ser optimizadas para una clase de analitos dada.
3. Muchos de los fluidos supercríticos son gases a temperatura ambiente. Así, las recuperaciones de los analitos son sencillas comparadas con las de los líquidos orgánicos que deben vaporizarse por calentamiento, lo que lleva a una posible descomposición en el caso de los analitos térmicamente inestables o bien a pérdidas en el caso de los analitos volátiles. En contraposición, un fluido supercrítico puede ser separado simplemente por descenso de la presión. Además, la corriente del analito puede hacerse borbotear a través de un pequeño vial que contenga un buen disolvente para el analito, el cual se disolverá en un pequeño volumen de disolvente.
4. Algunos fluidos supercríticos son baratos, inertes y no tóxicos. Por tanto, se les puede eliminar fácilmente una vez finalizada la extracción dejándolos que se evaporen a la presión atmosférica.

29C-2. Instrumentación

La instrumentación para SFE puede ser relativamente sencilla, como se muestra en la Figura 29-9. Los componentes instrumentales son: una fuente o depósito del fluido, normalmente una bombona de dióxido de carbono; una bomba de desplazamiento que tiene un valor de presión de al menos 400 atmósferas y un caudal para el fluido presurizado de

⁴ Para más información sobre la SFE, véase S. B. Hawthorne, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 633A; J. L. Hedrick, L. J. Mulcahey y L. T. Taylor, *Mikrochim Acta*, **1992**, 108, 115; L. T. Taylor, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 364A; *Supercritical Fluid Extraction and Its Use in Chromatographic Sample Preparation*, S. A. Wetswood, Ed., Boca Raton, CRC Press, 1993; M. D. Luque de Castro, M. Valcarcel y M. T. Tena, *Analytical Supercritical Fluid Extraction*, New York: Springer Verlag, 1994; L. T. Taylor, *Supercritical Fluid Extraction*, New York: Wiley, 1996.

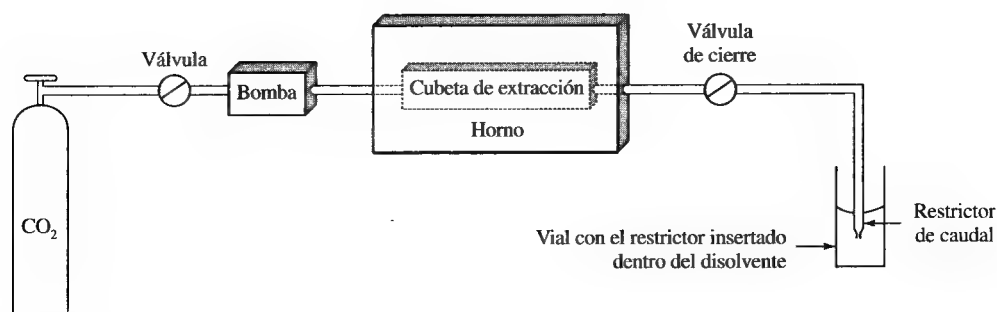


Figura 29-9. Disposición típica de un sistema de recogida independiente de SFE. La válvula de cierre es imprescindible en la SFE estática pero no en la dinámica.

al menos 2 mL/minuto; una válvula para controlar el flujo del fluido crítico en una cubeta de extracción calentada y que tiene una capacidad de unos pocos mL; una válvula de salida que lleva a un restrictor de flujo que presuriza el fluido y lo transfiere al interior de un dispositivo de acumulación. En los instrumentos más sencillos, el restrictor es simplemente un trozo de tubo capilar de 10 a 50 cm de longitud. En los instrumentos comerciales más modernos y sofisticados, los restrictores son variables y se controlan de forma manual o automática. Varios fabricantes de instrumentos ofrecen distintos tipos de aparatos para SFE⁵.

Un sistema de SFE puede actuar de dos modos. En el modo de *extracción dinámica*, la válvula entre la cubeta de extracción y el restrictor permanece abierta de manera que el fluido supercrítico fresco llega continuamente a la muestra y la sustancia extraída fluye continuamente hacia el recipiente donde se recoge y donde tiene lugar la despresurización. En el modo de *extracción estática*, la válvula entre la cubeta de extracción y el restrictor está cerrada y la cubeta de extracción está presurizada en condiciones estáticas. Después de un período adecuado la válvula de salida se abre y el contenido de la cubeta se transfiere a través del restrictor por un flujo dinámico por bombeo del fluido. El empleo del modo dinámico está más ampliamente difundido que el modo estático.

29C-3. La elección del fluido supercrítico

Se han empleado como medios de extracción docenas o más de fluidos supercríticos, pero por encima de todos, al igual que en SFC, la sustancia

más ampliamente utilizada es el dióxido de carbono o el dióxido de carbono que contiene algún modificador orgánico. La elección del mejor fluido se determina a partir de un número de variables entre las que se incluyen la polaridad y la solubilidad de los analitos y de los componentes de la matriz, la naturaleza física de la matriz, la concentración de los analitos, la humedad de las muestras, así como consideraciones cinéticas⁶. Desafortunadamente, la teoría de las extracciones con fluidos supercríticos es actualmente imperfecta y las condiciones finales, en la mayoría de los casos, deben ser determinadas empíricamente. El dióxido de carbono ha sido el fluido de elección en la mayoría de los estudios. Es un disolvente excelente para especies no polares, tales como alcanos y terpenos, y es un medio de extracción relativamente bueno para especies moderadamente polares, tales como hidrocarburos aromáticos policíclicos, bifenilos policlorados, aldehídos, ésteres, alcoholes, pesticidas organoclorados y grasas. Por lo general no es un buen medio de extracción para compuestos de elevada polaridad a menos que sea modificado por la adición de modificadores de muy elevada polaridad como lo es el metanol. Los modificadores se pueden introducir en el sistema de extracción bien por medio de una segunda bomba o por inyección del modificador en la muestra antes de la extracción.

Se han utilizado una gran cantidad de modificadores para aumentar la polaridad del dióxido de carbono como fluido supercrítico, entre los que se encuentran alcoholes de bajo peso molecular, carbonato de propileno, 2-metoxietanol, cloruro de metileno y ciertos ácidos orgánicos. El más común es un pequeño porcentaje de metanol. La Figu-

⁵ Véase F. Wach, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 369A.

⁶ Para la revisión de los efectos de muchas de estas variables, véase M. E. P. McNally, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 308A.

ra 29-10 demuestra la mejora en la eficacia de la extracción de diversos materiales de muestras de suelos en presencia de pequeñas cantidades de metanol.

29C-4. Extracciones independientes y en línea

Se han utilizado dos tipos de metodología para recoger los analitos después de la extracción: *en línea* e *independiente*. En la recogida independiente, que es la más simple de las dos, los analitos se recogen por inmersión del restrictor en unos pocos mililitros del disolvente y dejando que el fluido supercrítico gaseoso se escape a la atmósfera (véase Figura 29-9). Los analitos también pueden ser recogidos sobre adsorbentes como la sílice. Los analitos adsorbidos se eluyen después con un pequeño volumen de disolvente. En cualquier caso, los analitos separados son identificados después por cualquiera de los diversos métodos ópticos, electroquímicos o cromatográficos.

En la recogida en línea, el efluente del restrictor, después de despresurización, es transferido directamente a un sistema cromatográfico. En la mayoría de los casos se trata de un cromatógrafo de gases o de un cromatógrafo de fluidos supercríticos, aunque circunstancialmente han sido empleados cromatógrafos de líquidos. La principal ventaja de la recogida en línea es la eliminación de la manipulación de las muestras entre la extracción y la medida y la potencial mejora de la sensibilidad debido a que no se produce dilución de los analitos.

29C-5. Aplicaciones relevantes de la SFE

La última referencia de la nota 4 a pie de página da un listado de más de 100 aplicaciones analíticas de

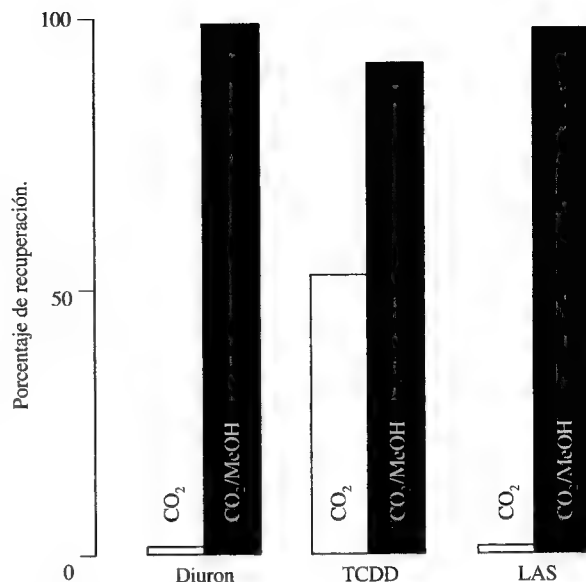


Figura 29-10. Comparación entre las eficacias de la extracción obtenidas utilizando CO₂ y CO₂ modificado con metanol. Las muestras son de suelos. Todas las extracciones duraron 30 minutos. El diuron es un pesticida habitual que es un derivado aromático de la urea. TCDD es la 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-dioxina. LAS es un tensioactivo lineal de alquilbencenosulfonato.

las extracciones de fluidos supercríticos que han aparecido en la bibliografía entre 1988 y 1993. Una mayoría de éstas han sido para el análisis de muestras medioambientales. Otras han sido de una variedad de muestras de alimentos, biomédicas e industriales. La Tabla 29-3, en la página siguiente, relaciona unas pocas aplicaciones típicas de las extracciones de fluidos supercríticos con extracción independiente y en línea.

TABLA 29-3. Algunas de las aplicaciones más típicas de la extracción con fluidos supercríticos

Material	Analito*	SF	Tiempo de extracción, min	Recogida independiente (1) y en línea (2)
Suelos	Pesticidas	CO ₂	20	1
Sedimentos fluviales	PAH	CO ₂ /5 % MeOH	120	1
Humo, polvo urbano	PAH	CO ₂	15	2
Lecho de la vía férrea	PCB, PAH	CO ₂ /MeOH	45	1
Alimentos	Grasas	CO ₂ /MeOH	12	1
Saborizantes, chicles	Aromas y fragancias	CO ₂	10	2
Suero	Colesterol	CO ₂	30	1
Carbón, cenizas en suspensión	PCB, dioxinas	CO ₂	15	2
Polímeros	Aditivos y oligómeros	CO ₂	15	2
Tejidos animales	Residuos de medicamentos	CO ₂	9	1

* PAH = hidrocarburos aromáticos policíclicos; PCB = bifenilos policlorados.

29D. CUESTIONES Y PROBLEMAS

29-1. Definir:

- Temperatura y presión críticas de un gas.
- Fluido supercrítico.

29-2. ¿Qué propiedades de un fluido supercrítico son importantes en cromatografía?

29-3. ¿En qué se diferencian los equipos instrumentales de la cromatografía de fluidos supercríticos de los de: (a) HPLC, y (b) GC?

29-4. Describir el efecto de la presión en los cromatogramas obtenidos en cromatografía de fluidos supercríticos.

29-5. Citar alguna de las propiedades más ventajosas del CO₂ supercrítico como fase móvil para las separaciones cromatográficas.

29-6. Comparar la cromatografía de fluidos supercríticos con los otros métodos de cromatografía en columna.

29-7. Predecir el efecto que tendrán sobre el tiempo de elución en SFC con dióxido de carbono supercrítico las siguientes modificaciones:

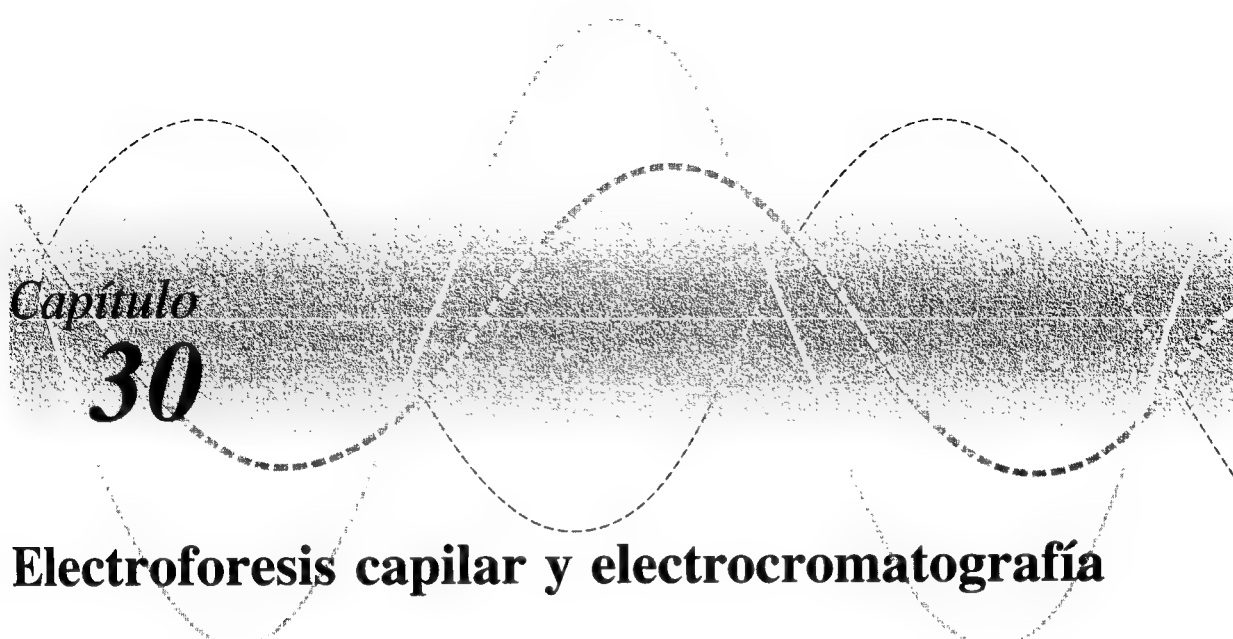
- Incremento de la velocidad de flujo (a temperatura y presión constantes).
- Incremento de la presión (a temperatura y caudal constantes).
- Incremento de la temperatura (a presión y caudal constantes).

29-8. Para las extracciones con fluidos supercríticos, diferenciar entre:

- Procesos de recogida en línea e independiente.
- Extracciones estáticas y dinámicas.

29-9. Citar las ventajas de las extracciones con fluidos supercríticos sobre las extracciones con líquidos.

29-10. ¿Cómo se recuperan los analitos después de una extracción con fluidos supercríticos?



Capítulo 30

Electroforesis capilar y electrocromatografía

En este capítulo se describen dos métodos de separación relativamente nuevos, la **electroforesis capilar** y la **electrocromatografía capilar**, que tienen en común el empleo del mismo tipo de instrumentación. En ambos se utiliza un capilar en cuyo interior hay un tampón y con un diámetro interno de 10 a 100 μm y una longitud de 40 a 100 cm. El capilar une dos recipientes que contienen el tampón y además dos electrodos de platino. La muestra se introduce en uno de los extremos del capilar y se aplica entre los dos electrodos un potencial de corriente continua del orden de 20 a 30 kV durante la separación. Los analitos, una vez separados, llegan al detector, que está situado en el extremo opuesto a aquél por donde se ha introducido la muestra. La Figura 30-1 corresponde a un diagrama de bloques típico de un instrumento que puede utilizarse bien en electroforesis capilar o en electrocromatografía capilar.

A pesar de la similitud de los equipos instrumentales, los principios en los que se fundamentan los dos métodos de separación son diferentes. En el caso de la electroforesis capilar las separaciones

dependen de las diferentes velocidades de los analitos, iones que migran bajo la influencia de un campo eléctrico externo. Por tanto, esta técnica es sólo aplicable a analitos que son de naturaleza iónica en el seno de una disolución amortiguadora contenida en el capilar. En cambio, la electrocromatografía capilar se puede aplicar a analitos tanto iónicos como neutros. En esta modalidad, el flujo electroosmótico actúa como una bomba que desplaza a las moléculas de analito a través de una segunda fase, la cual las retiene en mayor o menor grado. Por tanto, las separaciones se basan en la diferencia entre los equilibrios de distribución lo mismo que en HPLC. El origen de la acción de bombeo debida al flujo electroosmótico se describirá con detalle en el Apartado 30B-3.

En este capítulo consideraremos en primer lugar los principios de las separaciones electroforéticas, dedicando especial atención a la electroforesis capilar, y las aplicaciones de esta técnica a una diversidad de problemas analíticos. A continuación, estudiaremos los dos tipos de electrocromatografía, de los cuales la más utilizada hasta el

momento es la **cromatografía electrocinética micelar**.

30A. PANORÁMICA DE LA ELECTROFORESIS¹

La electroforesis capilar es un método de separación que se basa en la diferente velocidad de migración de las especies cargadas, en el seno de una disolución amortiguadora a través de la cual se aplica un campo eléctrico constante. Esta técnica de separación fue desarrollada, en primer lugar, por el químico sueco Arne Tiselius, quien durante la década de los años treinta la aplicó al estudio de las proteínas séricas. En 1948 fue galardonado con el Premio Nobel por estos trabajos.

La electroforesis se ha aplicado a un conjunto de problemas de separaciones analíticas difíciles: aniones y cationes inorgánicos, aminoácidos, catecolaminas, fármacos, vitaminas, carbohidratos, péptidos, proteínas, ácidos nucleicos, nucleótidos, polinucleótidos y otras numerosas especies.

Una ventaja especial de la electroforesis es su capacidad de separar macromoléculas de interés en la industria biotecnológica y en la investigación biológica y bioquímica. Durante muchos años la electroforesis ha sido un ingenioso método casero de separación de proteínas (enzimas, hormonas, anticuerpos) y ácidos nucleicos (ADN, ARN) para los cuales ofrece una resolución incomparable. Por ejemplo, si el objetivo es la secuenciación del ADN, es necesario distinguir entre polinucleótidos de cadena larga que tienen pesos moleculares que varían aproximadamente entre 200 y 500 y difieren sólo en un único nucleótido. Solamente la electroforesis tiene el suficiente poder de resolución para manejar este problema. El Proyecto Genoma Humano es una iniciativa a gran escala cuya finalidad es la determinación de la secuencia completa del ADN humano. Las exigencias de separación en el caso de este proyecto son asombrosas. Se supone que el ADN humano posee tres mil millones de nucleótidos. Sin embargo, un laboratorio moderno de secuenciación de ADN establece sólo la secuencia de menos de mil nucleótidos en un día.

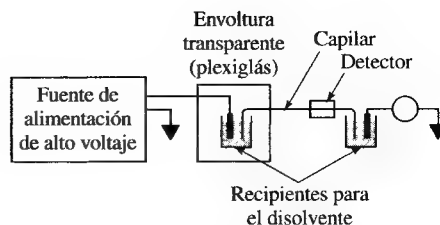


Figura 30-1. Diagrama esquemático de un equipo de electroforesis capilar de zona.

Una separación electroforética se lleva a cabo inyectando una pequeña parte de la muestra en una disolución tampón que está alojada en un tubo estrecho o en un medio soporte poroso y plano, como por ejemplo, papel o un gel semisólido. Seguidamente, se aplica un elevado potencial de corriente continua, a través del tampón, mediante dos electrodos situados en los extremos del tampón. El potencial impulsa a los iones de la muestra a migrar hacia uno u otro de los electrodos. La velocidad de migración de una especie dada depende de su carga y también de su tamaño. Las separaciones, en consecuencia, se basan en las diferencias en la relación carga-tamaño entre los diferentes analitos presentes en la muestra. Cuanto mayor es esta relación, más rápido migra un ion en el seno del campo eléctrico.

30A-1. Tipos de electroforesis

Las separaciones electroforéticas se llevan a cabo habitualmente en dos modalidades que difieren notablemente: *electroforesis convencional* y *electroforesis capilar*. La primera es la metodología clásica que ha sido utilizada durante muchos años para separar especies complejas, de elevado peso molecular, de interés biológico y bioquímico. Las separaciones convencionales se llevan a cabo sobre una capa delgada y plana o placa de un gel semisólido y poroso que contiene un tampón acuoso en el interior de sus poros.

Normalmente, esta placa tiene unas dimensiones de unos pocos centímetros de lado, y al igual que las placas de cromatografía en capa fina, es capaz de separar varias muestras simultáneamente. Las muestras se disponen como manchas o bandas sobre la placa, y se aplica el potencial de corriente continua, a través de la placa, durante un período de tiempo fijo. Cuando se juzga que las separaciones se han completado, se interrumpe el paso de la corriente, y las especies separadas se tiñen para vi-

¹ Se puede encontrar un tratamiento más extenso de la electroforesis en: J. W. Jorgenson, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 743A; A. T. Andrews, *Electrophoresis: Theory, Techniques and Clinical Applications*. Cambridge: Oxford University Press, 1986; M. Melvin, *Electrophoresis*. New York: Wiley, 1987.

sualizarse de modo similar a como se ha descrito para la cromatografía en capa fina en el Apartado 28H-2.

La electroforesis convencional es, actualmente, la técnica de separación más ampliamente utilizada por biólogos y bioquímicos. Un examen detenido de monografías, libros de texto, o revistas de los campos de las ciencias de la vida muestran cientos de fotografías de los desarrollos electroforéticos convencionales. La electroforesis capilar, que es una versión instrumental de la electroforesis, ha sido desarrollada y utilizada solamente en la última década y media, llegando a ser una importante técnica de separación utilizada por químicos y científicos. En muchos casos, esta nueva modalidad de desarrollo de las separaciones electroforéticas parece ser un sustituto, bastante satisfactorio, de la electroforesis convencional, con diversas e importantes ventajas que se detallarán seguidamente.

En este capítulo, se dan muy pocos detalles de la electroforesis convencional, ya que la literatura sobre esta técnica es tan abundante que queda fuera del alcance de este libro. Además, la electroforesis clásica no es realmente un método instrumental, mientras que la electroforesis capilar sí lo es. También se discutirá la *electrocromatografía*, la cual es una técnica híbrida entre la electroforesis y la cromatografía de líquidos.

30A-2. Fundamento de las separaciones electroforéticas

La *velocidad de migración* de un ion, v , en centímetros por segundo, en el seno de un campo eléctrico, es igual al producto de la intensidad del campo eléctrico E ($V\text{ cm}^{-1}$) por la *movilidad electroforética* μ_e ($\text{cm}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$), esto es:

$$v = \mu_e E \quad (30-1)$$

La movilidad electroforética es directamente proporcional a la carga eléctrica del analito e inversamente proporcional a los factores de retardo por rozamiento. El campo eléctrico actúa solamente sobre los iones. Si dos especies difieren bien en la carga o en las fuerzas de rozamiento, se moverán a través del tampón y se separan. Las especies neutras no se separan. La fuerza de retardo por rozamiento se determina en un analito cargado, a partir del tamaño y de la forma del ion y de la viscosidad

del medio en el cual migra. Para iones del mismo tamaño la fuerza impulsora será mayor, en el de mayor carga, y tendrá una velocidad de migración más rápida. Para los iones que presenten la misma carga la fuerza de retardo por rozamiento será más pequeña, en el ion más pequeño, y tendrá una velocidad de migración más rápida. La *relación carga-tamaño* de los iones combina estos dos efectos. Obsérvese que, en contraste con la cromatografía, solamente una fase está involucrada en una separación electroforética.

30B. ELECTROFORESIS CAPILAR

La electroforesis convencional ha sido y continúa siendo de gran utilidad; sin embargo este tipo de separación electroforética es lenta, laboriosa y difícil de automatizar, y además no proporciona resultados cuantitativos precisos. La investigación y la aplicación de la electroforesis llevada a cabo en capilares tuvo un crecimiento explosivo durante la segunda mitad de la década de los ochenta, ello unido a la aparición de varios instrumentos comerciales. La *electroforesis capilar* da lugar a separaciones con volúmenes de muestra extraordinariamente pequeños (de 0,1 a 10 nL, en contraste con la electroforesis convencional en la cual se emplean volúmenes de muestra del orden de μL) y con una elevada resolución y rapidez. Además, las especies separadas eluyen de uno de los extremos del capilar, pudiendo utilizarse detectores cuantitativos como los empleados en HPLC, en lugar de las incómodas técnicas de coloración de la electroforesis convencional².

30B-1. Velocidades de migración y alturas de plato en electroforesis capilar

Como se ha visto ya en la Ecuación 30-1, la velocidad de migración de un ion, v , depende de la inten-

² Artículos de revisión sobre electroforesis capilar: J. W. Jorgenson, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 743A; A. G. Ewing, R. A. Wallingford, T. M. Olefirowicz, *Anal. Chem.*, **1989**, 61, 292A; H. H. Lauer y J. B. Ooms, *Anal. Chim. Acta*, **1991**, 250, 45. Libros recientes: D. R. Baker, *Capillary Electrophoresis*. New York: Wiley, 1995; R. Weinberger, *Practical Capillary Electrophoresis*. New York: Academic Press, 1993; S. Y. Li, *Capillary Electrophoresis*. New York: Elsevier, 1992; *Capillary Electrophoresis*, P. Camilleri, Ed. Boca Raton: CRC Press, 1993; F. Foret, L. Krivankova y P. Bocek, *Capillary Zone Electrophoresis*. New York: VCH, 1993.

sidad del campo eléctrico aplicado. El campo eléctrico se determina por la magnitud del potencial aplicado (V , en voltios) y la longitud L sobre la que se aplica. Así,

$$v = \mu_e \cdot \frac{V}{L} \quad (30-2)$$

Esta relación indica que es necesario que se apliquen potenciales elevados para obtener migraciones iónicas rápidas y una rápida separación. Si bien es deseable que las separaciones sean rápidas, es aún más importante obtener separaciones de alta resolución. Por ello, se hace necesario examinar los factores que determinan la resolución en la electroforesis.

30B-2. Alturas de plato en electroforesis capilar

En cromatografía, tanto la difusión longitudinal como la resistencia a la transferencia de masa contribuyen al ensanchamiento de banda. Sin embargo, dado que en la electroforesis solamente está implicada una única fase, sólo es necesario considerar la difusión longitudinal. Para la electroforesis se ha demostrado que el número de platos (N) viene dado por la siguiente expresión:

$$N = \frac{\mu_e V}{2D} \quad (30-3)$$

donde D es el coeficiente de difusión del soluto en $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$. Debido a que la resolución se incrementa al aumentar el número de platos, es aconsejable aplicar potenciales elevados con la finalidad de obtener separaciones con una elevada resolución. Obsérvese que, para la electroforesis, al contrario que lo que sucede en cromatografía, el número de platos no se incrementa con la longitud de la columna.

En la electroforesis convencional en gel, el calentamiento por efecto Joule limita la magnitud del potencial aplicado a un valor en torno a 500 V. Es aquí donde radica una de las ventajas del formato capilar comparado con el formato convencional. La larga longitud y la pequeña sección del capilar hacen que la resistencia de la disolución en el capilar sea excepcionalmente elevada. Como el calor disipado es inversamente proporcional a la resistencia se pueden aplicar potenciales muchísimo

más altos. Además, el capilar proporciona una eficaz refrigeración por su elevada relación superficie-volumen. Como resultado de estos factores, el ensanchamiento de banda debido a la convección térmica no tiene lugar o es insignificante. Con la electroforesis capilar los potenciales normalmente utilizados varían entre 20.000 y 60.000 V y estos potenciales elevados producen las correspondientes mejoras en la rapidez y en la resolución con respecto a la disposición convencional. Las anchuras de pico, en la electroforesis capilar, alcanzan a menudo el límite teórico marcado por la difusión longitudinal. La electroforesis capilar genera normalmente un número de platos comprendido entre 100.000 y 200.000, comparados con los típicos 5.000 a 20.000 platos que se obtienen en HPLC. También se han descrito números de platos de 3.000.000 en el caso de las separaciones por electroforesis capilar de zona de aminoácidos dansilados³ y de 10.000.000 para las separaciones de polinucleótidos por electroforesis capilar en gel⁴.

30B-3. Flujo electroosmótico

Cuando se aplica un potencial elevado a través de un capilar que contiene un tampón, se origina normalmente un *flujo electroosmótico*, gracias al cual el disolvente migra hacia el cátodo o el ánodo. La velocidad de migración puede ser apreciable. Por ejemplo, se ha demostrado que una disolución tampón 50 mM de pH 8 migra hacia el cátodo a través de un capilar de 50 cm a una velocidad de aproximadamente 5 cm/min cuando se aplica un potencial de 25 kV⁵.

Como se indica en la Figura 30-2, la causa del flujo electroosmótico es la doble capa eléctrica que se forma en la interfase sílice/disolución. A valores de pH por encima de 3, la pared interna de un capilar de sílice presenta carga negativa debido a la ionización de los grupos silanol ($\text{Si}-\text{OH}$) de la superficie. Los cationes del tampón se agrupan sobre la superficie negativa del capilar de sílice para formar la doble capa eléctrica, cuyas propiedades se describen en el Apartado 22A-2. Los cationes, situados en la capa exterior difusa de la doble capa,

³ R. D. Smith, J. A. Olivares, N. T. Nguyen y H. R. Udseth, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, 436.

⁴ A. Guttman, A. S. Cohen, D. N. Heiger y B. L. Karger, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 137.

⁵ J. D. Olechno, J. M. Y. Tso, J. Thayer y A. Wainright, *Amer. Lab.*, **1990**, 22(17), 51.

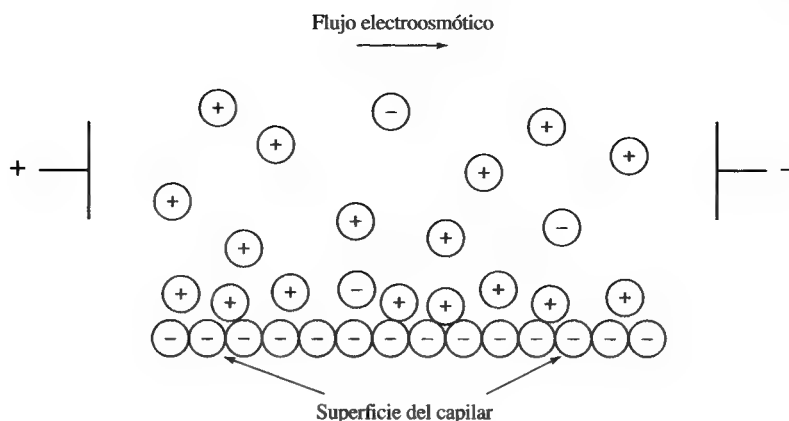


Figura 30-2. Distribución de las cargas en la interfaz del capilar de sílice y flujo electroosmótico resultante. (Reproducción autorizada de A. G. Ewing, R. A. Wallingford y T. M. Olefirowicz, *Anal. Chem.*, **1989**, 61, 294A.)

son atraídos hacia el cátodo o electrodo negativo, y dado que los cationes están solvatados arrastran al resto de la disolución con ellos, a lo largo del capilar. Como se muestra en la Figura 30-3, la electroósmosis conduce a un flujo en la disolución que tiene un perfil plano, perpendicular al capilar, a diferencia del perfil parabólico del flujo en cromatografía líquida, cuyo origen es la presión. Debido a este perfil esencialmente plano, el flujo electroosmótico no contribuye de manera significativa al ensanchamiento de banda del modo en que lo hace el flujo conducido por la presión en cromatografía. La velocidad del flujo electroosmótico es generalmente mayor que las velocidades de migración electroforética de los iones individuales y llega a ser, en la práctica, el mecanismo de bombeo de la fase móvil en la electroforesis capilar de zona. Aunque los analitos migran según sus cargas dentro del capilar, la velocidad del flujo electroosmótico es normalmente suficiente como para arrastrar a todas las especies, las cargadas positivamente, las neutras y las cargadas negativamente hacia el mismo extremo del capilar, de tal forma que todas ellas pueden detectarse al pasar por un punto co-

mún. El *electroforegrama* resultante es similar a un cromatograma.

La velocidad del flujo electroosmótico v viene dada por una ecuación similar a la Ecuación 30-1. Esto es:

$$v = \mu_{eo}E \quad (30-4)$$

En presencia de la electroósmosis, la velocidad de un ion es la suma de su velocidad de migración y de la velocidad del flujo electroosmótico. Así:

$$v = (\mu_e + \mu_{eo})E \quad (30-5)$$

Obsérvese que μ_e , en el caso de un anión, tendrá signo negativo.

Como consecuencia de la electroósmosis, el orden de elución en una separación por electroforesis capilar típica es: primero los cationes más rápidos, seguidos sucesivamente de los cationes más lentos, todas las especies neutras, en una única zona, y finalmente los aniones más lentos seguidos de los aniones más rápidos (véase Fig. 30-4). En algunos casos la velocidad del flujo electroosmótico no es lo bastante grande como para superar la velocidad

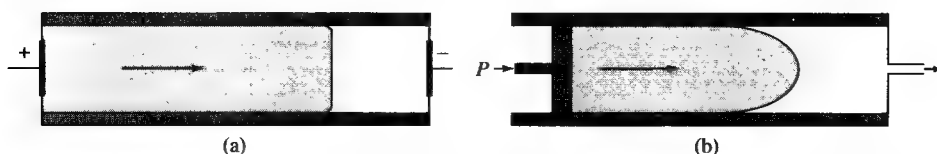


Figura 30-3. Perfiles de flujo para los líquidos: (a) por presión electroosmótica, y (b) por presión hidrodinámica.

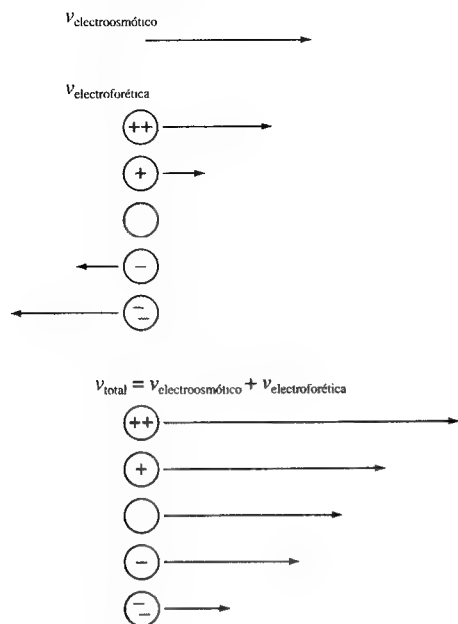


Figura 30-4. Velocidades desarrolladas en presencia del flujo electroosmótico. La longitud de la flecha junto al ion indica la magnitud de su velocidad, y el sentido de la flecha indica el sentido del movimiento. El electrodo negativo estaría situado a la derecha y el positivo a la izquierda para esta disolución.

a la cual se mueven algunos aniones hacia el ánodo, en cuyo caso estas especies se desplazarán hacia el ánodo.

Es posible invertir el sentido del flujo electroosmótico normal por adición de un tensoactivo catiónico al tampón. El tensoactivo se adsorbe sobre la pared del capilar, y hace que ésta quede cargada positivamente. En esta nueva situación, los aniones del tampón se agrupan en las proximidades de la pared y son arrastrados hacia el cátodo, o electrodo negativo. Esta estrategia se utiliza a menudo para acelerar las separaciones de los aniones.

La electroósmosis es a menudo deseable en ciertos tipos de electroforesis capilar, pero no lo es en otros. Puede eliminarse el flujo electroosmótico por recubrimiento de la pared interna del capilar con un reactivo como el trimetilclorosilano, para eliminar los grupos silanol de la superficie.

30B-4. Instrumentación en electroforesis capilar

Como se muestra en la Figura 30.1, la instrumentación para la electroforesis capilar es sencilla⁶. Un

capilar de sílice fundida, que típicamente tiene de 10 a 100 μm de diámetro interno y de 40 a 100 cm de longitud y que está relleno de un tampón, conecta entre sí dos recipientes que contienen el mismo tampón, que también contienen los electrodos de platino. La introducción de la muestra se lleva a cabo por uno de los extremos, y la detección en el otro extremo. El sentido de la polaridad de la fuente de alimentación de alto voltaje puede ser el indicado, o bien el contrario para lograr una rápida separación de los aniones.

Aunque la instrumentación es conceptualmente sencilla, hay dificultades experimentales significativas en la introducción de la muestra y en la detección, debido a que los volúmenes implicados son muy pequeños. Puesto que el volumen de un capilar normal es de 4 a 5 μL , los volúmenes de inyección y detección deben ser del orden de unos pocos nanolitros, o menores.

Introducción de la muestra

Los métodos más corrientes de introducción de las muestras son la inyección electrocinética y la inyección por presión. En el método de inyección electrocinética, se retiran del depósito del tampón uno de los extremos del capilar y el correspondiente electrodo, y se colocan en un pequeño recipiente donde está situada la muestra. Se aplica entonces un potencial durante un tiempo determinado, lo que hace que la muestra penetre en el capilar debido a la actuación conjunta de los fenómenos de migración iónica y flujo electroosmótico. El extremo del capilar y el electrodo vuelven a introducirse en la disolución tampón, donde se mantienen durante el resto del proceso de separación. Esta técnica de inyección es discriminatoria al introducir mayor cantidad de los iones más móviles respecto a los más lentos.

En el método de inyección por presión, el extremo del capilar se coloca momentáneamente en un pequeño recipiente que contiene la muestra, y se utiliza una diferencia de presión para conducir la muestra al interior del capilar. Esta diferencia de presión proviene de aplicar vacío en el extremo del detector o de la aplicación de presión en el recipiente que contiene la muestra, o bien se consigue por elevación del extremo que contiene la muestra. La inyección por presión no diferencia los iones

⁶ Para una revisión de los equipos de electroforesis capilar comerciales actuales, véase C. Henry, *Anal. Chem.*, **1996**, *64*, 747A.

según su movilidad; sin embargo, no puede utilizarse en capilares rellenos de gel.

Tanto en el caso de la inyección electrocinética como en el de la inyección por presión, el volumen inyectado se controla por la duración de la inyección. Los volúmenes de inyección más habituales están comprendidos entre 5 y 50 nL, pero se han llegado a emplear volúmenes por debajo de 100 pL. Para un tampón de densidad y viscosidad similares a las del agua, una diferencia de altura de 5 cm durante 10 s inyecta aproximadamente 6 nL en un capilar cuyo diámetro interno es de 75 μm ⁷.

El empleo de puntas de microinyección construidas a partir de capilares estrechados hasta diámetros muy pequeños permite la toma de muestras de entidades cuyo volumen es del orden de los picolitros, como sucede con las células aisladas y estructuras subcelulares en el interior de éstas. Esta técnica se ha empleado para estudiar aminoácidos y neurotransmisores procedentes de una sola célula.

Detección

Debido a que en la mayoría de las modalidades de electroforesis capilar los analitos separados se desplazan pasando por un punto común, los detectores son semejantes en diseño y función a los de HPLC, ya descritos. Sin embargo, se encuentra una diferencia de comportamiento en los detectores, porque en la electroforesis capilar cada ion migra a una velocidad determinada por su movilidad electroforética. Por tanto, las bandas de analito atraviesan el detector a diferentes velocidades, lo cual hace que las áreas de los picos sean ligeramente dependientes de los tiempos de retención. En cambio, en HPLC todas las especies pasan a través del detector a la velocidad de la fase móvil, y las áreas de los picos son independientes de los tiempos de retención. Normalmente, esta dependencia del tiempo tiene poca importancia práctica.

En la Tabla 30-1 se presenta una lista de los métodos de detección en electroforesis capilar publicados durante 1988. La segunda columna de la tabla indica los límites de detección representativos de estos detectores.

Métodos de absorbancia. Los detectores de fluorescencia y absorbancia se han empleado ampliamente en electroforesis capilar, aunque los últimos

son más comunes debido a que su campo de aplicación es mayor. Para que el volumen de detección se mantenga dentro del orden de magnitud del nL o inferior, la detección se lleva a cabo *en columna*. Para ello, se elimina el recubrimiento protector de poliimida de la parte externa de una pequeña sección de la columna por combustión, disolución o raspado, y esa parte del capilar hace las veces de la celda de detección. Desgraciadamente, el camino óptico para tales medidas no es mayor de 50 a 100 μm , lo cual restringe los límites de detección en términos de concentración; sin embargo, debido a los pequeños volúmenes que están involucrados, los límites de detección en términos de masa son iguales o mejores que los obtenidos en HPLC.

Con vistas a mejorar la sensibilidad de las medidas de absorbancia, se han propuesto varios métodos para incrementar el camino óptico de las medidas, tres de las cuales se muestran en la Figura 30-5. Uno de estos métodos, que está comercializado, se basa en doblar el extremo del capilar en forma de «z», como se muestra en la Figura 30-5a, obteniéndose un camino óptico de 3 mm. La mejora de sensibilidad lograda con este método es inferior a la esperada, probablemente debido a un enfoque inadecuado de la radiación.

La Figura 30-5b muestra una segunda estrategia para aumentar el camino óptico, consistente en formar una burbuja cerca del extremo del capilar. En la versión comercializada de esta técnica, la burbuja correspondiente a un capilar de 50 μm tiene un diámetro de 150 μm , lográndose así aumentar tres veces el camino óptico.

Un tercer método para incrementar el camino óptico de la radiación por reflexión se muestra en la Figura 30-5c. En esta técnica, se deposita en el extremo del capilar un recubrimiento de plata reflectante, y la radiación experimenta numerosas reflexiones antes de salir del capilar.

Detección indirecta. Se ha utilizado el método de detección indirecta de absorbancia para lograr la detección de especies que, debido a su pequeña absorptividad molar, resultan difíciles de detectar sin derivatización. Se incorpora un cromóforo iónico al tampón de la electroforesis, lo que hace que el detector reciba una señal constante debida a la presencia de esta sustancia. El analito desplaza a algunos de estos iones, como en la cromatografía de intercambio iónico, de tal manera que la señal detectada desciende cuando una banda del analito atraviesa el detector. El analito se cuantifica por el

⁷ J. D. Olechno, J. M. Y. Tso, J. Thayer y A. Wainright, *Amer. Lab.*, **1990**, 22(18), 30.

TABLA 30-1. Modalidades de detección en electroforesis capilar^a

Fundamento de la detección	Límite de detección ^b (moles detectados)
Espectrometría	
Absorción ^c	10^{-15} - 10^{-13}
Fluorescencia	
Derivatización precolumna	10^{-17} - 10^{-20}
Derivatización en columna	8×10^{-16}
Derivatización poscolumna	2×10^{-17}
Fluorescencia indirecta	5×10^{-17}
Lentes térmicas ^c	4×10^{-17}
Raman ^c	2×10^{-15}
Espectrometría de masas	1×10^{-17}
Electroquímica	
Conductividad ^c	1×10^{-16}
Potenciometría	No
Amperometría	7×10^{-19}
Radiometría ^c	1×10^{-19}

^a Reproducción autorizada de A. G. Ewing, R. A. Wallingford y T. M. Olefirowicz, *Anal. Chem.*, **1989**, *61*, 298A.

^b Los límites de detección señalados han sido determinados mediante un amplio conjunto de volúmenes de inyección en el intervalo entre 18 pL a 10 nL.

^c Límite de detección en términos de masa obtenidos a partir del límite de detección de concentración utilizando un volumen de inyección de 1 nL.

descenso en el valor de la absorbancia. El electroforegrama de la Figura 30-6 se ha obtenido utilizando el método de detección indirecta de absorbancia, con ion cromato 4 mM como cromóforo; este ion absorbe fuertemente a 254 nm en el tampón.

Detección por fluorescencia. Al igual que en HPLC, la detección por fluorescencia incrementa la sensibilidad y selectividad para los analitos fluorescentes o los productos derivatizados fluorescentes. Se prefiere la instrumentación basada en el empleo de láser, con la finalidad de focalizar la radiación excitadora en una pequeña zona del capilar y lograr los bajos límites de detección inherentes al empleo de fuentes intensas. La detección de fluorescencia con láser ha permitido la detección de tan sólo 10 zeptomoles, o 6.000 moléculas⁸.

Detección electroquímica. Se han utilizado dos tipos de detección electroquímica en electroforesis capilar: conductimétrica y amperométrica. Uno de los problemas de la detección electroquímica ha sido el de aislar los electrodos del detector de la influencia de los elevados potenciales necesarios para la separación. Uno de los métodos de aislamiento consiste en unir el capilar a un segundo capilar que contiene los electrodos del detector mediante una unión de vidrio poroso o grafito.

Detección por espectrometría de masas. Los flujos tan pequeños, de alrededor de 1 μ L/min, que proceden de los capilares de la electroforesis, hacen posible el acoplamiento directo del efluente del capilar de un dispositivo electroforético a la fuente de ionización de un espectrómetro de masas. En la actualidad la interfase más empleada para el proceso de introducción de las muestras/ionización es el sistema de electronebulización (Apartado 20B-4), aunque también se ha empleado el bombardeo por

⁸ S. Wu y N. Dovichi, *J. Chromatogr.*, **1989**, *480*, 141.

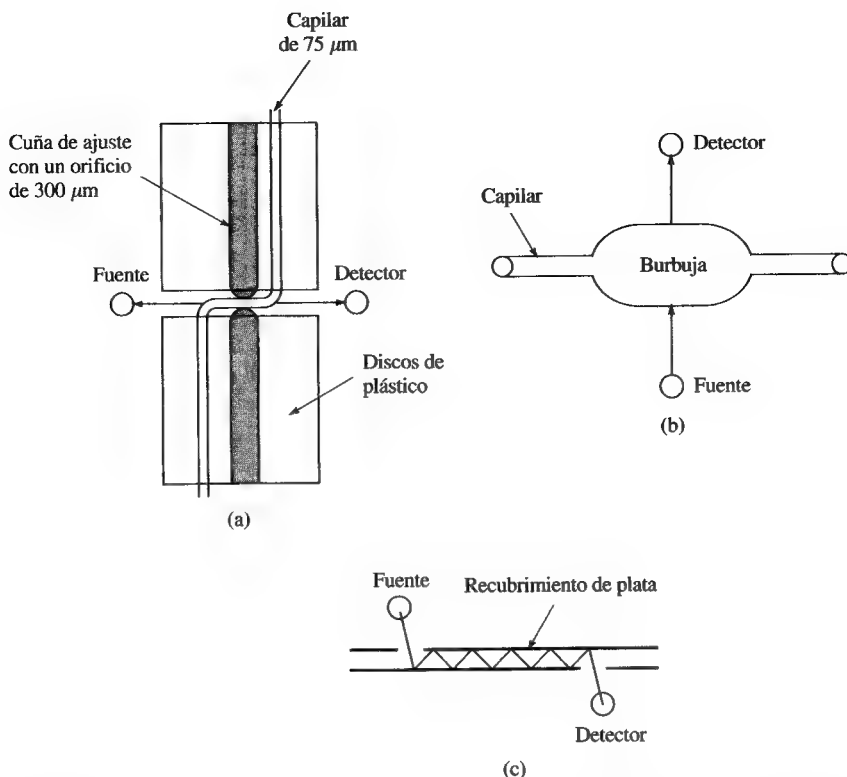


Figura 30-5. Diseños de los tres tipos de celdas para mejorar la sensibilidad de la detección por medida de la absorbancia: (a) celda tipo «Z» de 3 mm, (b) celda de tipo burbuja de 150 μm , y (c) celda de reflexiones múltiples.

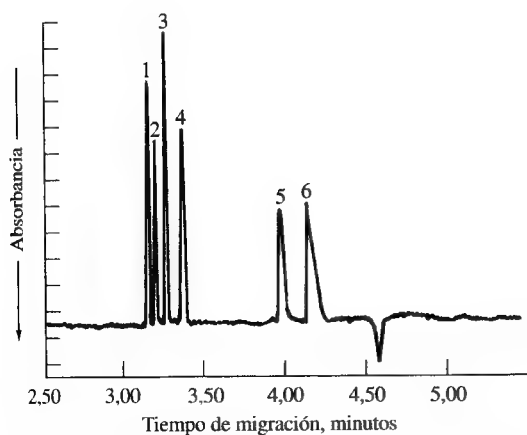


Figura 30-6. Electroforegrama obtenido de la mezcla de seis aniones con detección indirecta a 254 nm empleando una disolución 4 nM de ion cromato. Picos: (1) bromuro (4 ppm), (2) cloruro (2 ppm), (3) sulfato (4 ppm), (4) nitrato (4 ppm), (5) fluoruro (1 ppm) y (6) fosfato (6 ppm).

átomos rápidos. La electroforesis capilar con detector espectrométrico de masas tiene solamente una década y media, pero ha llegado a ser de gran interés para biólogos y bioquímicos para la determinación de moléculas grandes de origen natural, como las proteínas, fragmentos de ADN y péptidos.

La Figura 30-7 es un esquema de una interfase de electronebulización típica acoplada a un espectrómetro de masas cuadrupolar. Nótese que se ha suprimido el segundo recipiente de tampón y que el potencial de 30-50 kV necesario para la separación electroforética, se aplica entre el depósito del tampón que queda y el extremo del capilar el cual está metalizado. También se aplica un potencial de 5 kV entre la punta del capilar y la tierra para cargar el electronebulizador.

La Figura 30-8 muestra el espectro de masas, obtenido con electronebulización, de la vasotocina, un polipéptido de peso molecular de 1.050. Obsérvese la presencia de especies doble y triplemente cargadas. En los casos de especies de pesos moleculares mayores, se encuentran a menudo iones

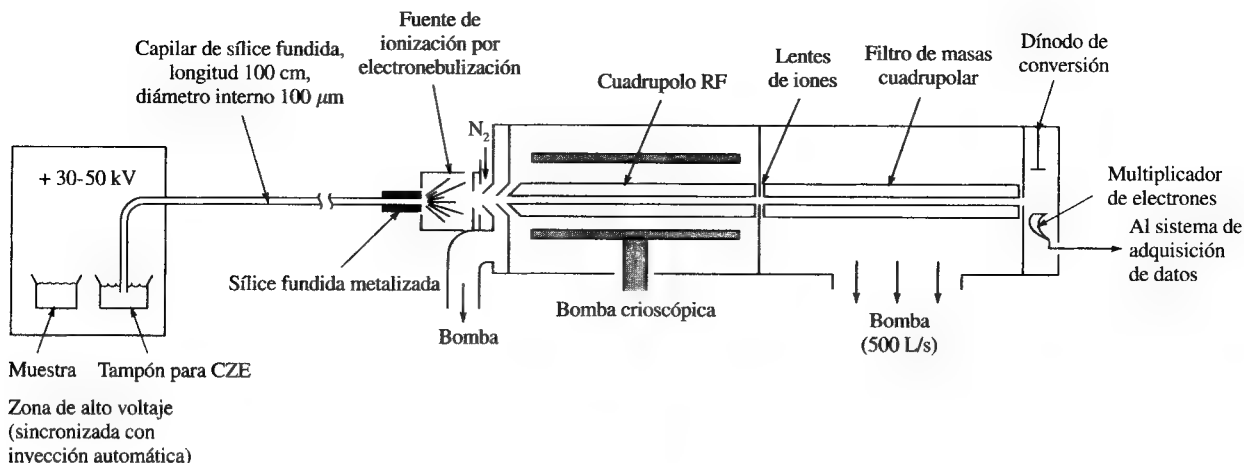


Figura 30-7. Equipo instrumental de electroforesis capilar/espectrometría de masas. La diferencia de potencial entre el tampón situado a la izquierda y el capilar metalizado de sílice es de 30 a 50 kV. El potencial aplicado en el electrospray varía de 3 a 5 kV. El flujo del nitrógeno a $\approx 70^\circ\text{C}$ necesario para producir la desolvatación es de 3 a 6 L/min. (Reproducción autorizada de R. D. Smith, J. A. Olivares, N. T. Nguyen y H. R. Udseth, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, 437.)

portadores de una docena o más cargas. Este hecho posibilita la detección de analitos de pesos moleculares elevados con un instrumento de cuadrupolo capaz de detectar un intervalo de masa relativamente pequeño.

Los límites de detección típicos para el sistema electroforesis capilar/espectrometría de masas (CE/MS) son del orden de unas pocas decenas de femtomoles para moléculas que tienen un peso molecular de 100.000 o superior.

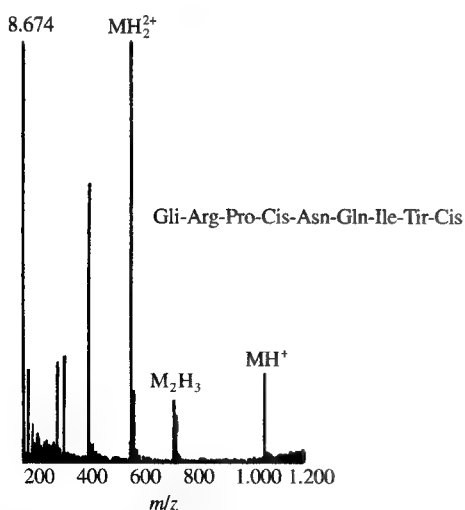


Figura 30-8. Espectro de masas ESI de vasotocina. (Reproducción autorizada de R. D. Smith, J. A. Olivares, N. T. Nguyen y H. R. Udseth, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, 438.)

30C. APLICACIONES DE LA ELECTROFORESIS CAPILAR⁹

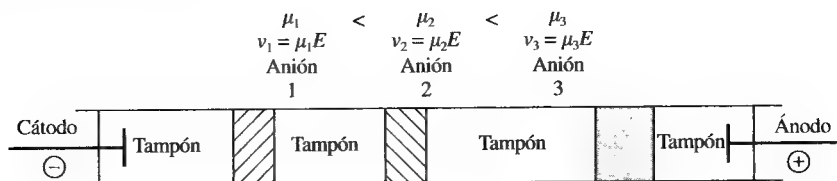
Las separaciones por electroforesis capilar se llevan a cabo de distintas maneras, también llamadas modalidades. Es interesante destacar que estas modalidades se emplearon en primer lugar en la electroforesis convencional, y se adaptaron posteriormente a la electroforesis capilar. Estas modalidades son la *electroforesis capilar de zona* (CZE), *electroforesis capilar en gel* (CGE), *iso-electroenfoque capilar* (CIEF) e *isotacoforesis capilar* (CITP). En los próximos apartados se ilustran las aplicaciones más relevantes de estas técnicas.

30C-1. Electroforesis capilar de zona

En la electroforesis capilar de zona (CZE), la composición del tampón es constante en toda la zona de separación. El potencial aplicado hace que los diferentes componentes iónicos de la mezcla migren cada uno según su propia movilidad y se separen en zonas que pueden estar completamente resueltas o parcialmente solapadas. Entre las zonas comple-

⁹ Una revisión excelente de las aplicaciones biológicas de la electroforesis capilar y la electrocromatografía es la de B. L. Karger, A. S. Cohen y A. Gutman, *J. Chromatogr.*, **1989**, 492, 585.

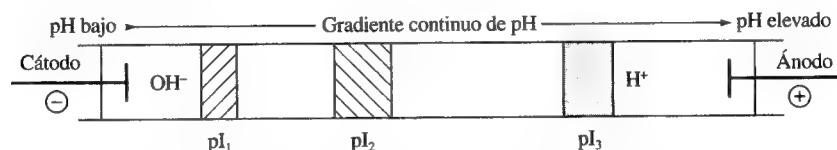
(a) Electroforesis de zona



(b) Isotacoforesis



(c) Isoelectroenfoque

**Figura 30-9.** Tres de los distintos modos de separación por electroforesis.

tamente resueltas hay huecos ocupados por el tampón (véase Fig. 30-9a). Esta situación es análoga a la que se da en la cromatografía de elución en columna, donde se observan regiones de fase móvil entre las zonas que contienen los analitos separados.

Separación de iones pequeños

En la mayoría de las separaciones electroforéticas de iones pequeños, se ha observado que lo más favorable para lograr tiempos de análisis breves es hacer que los analitos se muevan en el mismo sentido que el flujo electroosmótico. Así, en las separaciones de cationes en capilares cuyas paredes no han sido tratadas, tanto el flujo electroosmótico como los cationes se desplazan hacia el cátodo. Por otro lado, para las separaciones de aniones, el flujo electroosmótico se invierte normalmente debido al tratamiento de las paredes del capilar con una sal de alquilamonio, como el bromuro de cetil trimetilamonio. Los iones amonio cargados positivamente llegan así a quedar enlazados a la superficie, cargada negativamente, de la sílice y crean una doble capa de disolución cargada negativamente que es atraída hacia el ánodo, invirtiendo el flujo electroosmótico.

Con anterioridad, el método más comúnmente utilizado para el análisis de aniones pequeños, ha

sido la cromatografía de intercambio iónico. Para los cationes, las técnicas favoritas han sido la espectroscopia de absorción atómica y la espectroscopia de emisión de plasma de acoplamiento inductivo. En la actualidad, sin embargo, los métodos de electroforesis capilar han empezado a competir con los métodos tradicionalmente utilizados en el análisis de iones pequeños. Han sido varias las razones admitidas que llevan a la adopción de los métodos electroforéticos, siendo las principales: equipos más económicos, menores requerimientos de muestra, mayor rapidez y mejor resolución.

El coste inicial del equipo y los gastos de mantenimiento para la electroforesis son, en general, significativamente más bajos que para los instrumentos de cromatografía iónica y de espectroscopias atómicas. Así, los equipos comerciales de electroforesis se venden a un precio de mercado que varía entre 15.000 y 40.000 dólares¹⁰.

Los tamaños de muestra para la electroforesis son del orden de nanolitros, mientras que normalmente se necesitan tamaños de muestra mucho mayores, del orden de microlitros, para los otros tipos de análisis de iones pequeños. Por ello, los métodos electroforéticos son más sensibles que los métodos donde se determina la masa (pero no lo son

¹⁰ Véase M. Warner, *Anal. Chem.*, **1994**, *66*, 1137A.

más que en aquellos otros los que se determina la concentración).

La Figura 30-10 ilustra la incomparable rapidez y resolución de las separaciones electroforéticas de aniones pequeños. En el ejemplo, se separaron limpiamente 30 aniones en poco más de 3 minutos, el mismo tiempo que requeriría una separación clásica por intercambio iónico de sólo tres o cuatro aniones. La Figura 30-11 proporciona una segunda ilustración de la rapidez con que se pueden llevar a cabo las separaciones; en ella, se separan 19 cationes en menos de 2 minutos.

Separación de moléculas

Puede separarse y analizarse por CZE una gran variedad de moléculas de pequeño tamaño, tales como herbicidas sintéticos, pesticidas y fármacos, siempre que sean moléculas cargadas o puedan derivatizarse para dar un ion. La Figura 30-12 constituye un ejemplo ilustrativo de la aplicación del método, en el cual se separan en menos de 15 minutos tres antiinflamatorios con estructura de derivados de ácidos carboxílicos.

Proteínas, aminoácidos e hidratos de carbono se han separado en tiempos mínimos por CZE. En

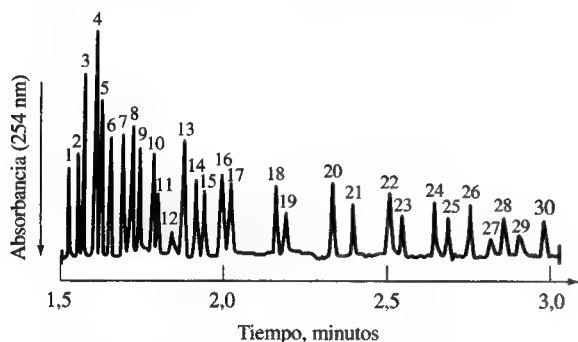


Figura 30-10. Electroforegrama de la separación de 30 aniones. Diámetro interno del capilar: 50 μm (sílice fundida). Detección: UV indirecta, 254 nm. Picos: 1 = tiosulfato (4 ppm), 2 = bromuro (4 ppm), 3 = cloruro (2 ppm), 4 = sulfato (4 ppm), 5 = nitrito (4 ppm), 6 = nitrato (4 ppm), 7 = molibdato (10 ppm), 8 = azida (4 ppm), 9 = wolframato (10 ppm), 10 = monofluorofosfato (4 ppm), 11 = clorato (4 ppm), 12 = citrato (2 ppm), 13 = fluoruro (1 ppm), 14 = formiato (2 ppm), 15 = fosfato (4 ppm), 16 = fosfito (4 ppm), 17 = clorito (4 ppm), 18 = galactarato (5 ppm), 19 = carbonato (4 ppm), 20 = acetato (4 ppm), 21 = etanosulfonato (4 ppm), 22 = propionato (5 ppm), 23 = propanosulfonato (4 ppm), 24 = butirato (5 ppm), 25 = butanosulfonato (4 ppm), 26 = valerato (5 ppm), 27 = benzoato (4 ppm), 28 = *l*-glutamato (5 ppm), 29 = pentanosulfonato (4 ppm), 30 = *d*-gluconato (5 ppm). (Reproducción autorizada de W. A. Jones y P. Jandik, *J. Chromatogr.*, 1991, 546, 445.)

el caso de los hidratos de carbono, que sean compuestos neutros, las separaciones están precedidas por la formación de complejos de borato cargados negativamente, que se forman fácilmente si se emplea un tampón borato como medio de separación. La separación de mezclas de proteínas se muestra en la Figura 30-13.

30C-2. Electroforesis capilar en gel

La electroforesis capilar en gel (CGE) se lleva a cabo generalmente en una matriz polimérica con estructura de gel poroso, cuyos poros contienen una mezcla tampón en la que se lleva a cabo la separación. En los primeros estudios en electroforesis convencional, la principal misión del medio polimérico era reducir la dispersión del analito causada por la difusión y la convección, así como proporcionar un medio adecuado para poder ser manipulado para la detección. Se observó posteriormente que un medio de este tipo puede ejercer una acción de tamiz molecular, retardando la migración de las especies a analizar en diferentes grados, dependiendo del tamaño de poro del polímero y del tamaño de los iones a analizar. Este tipo de efecto de tamiz es especialmente útil en las separaciones de macromoléculas, tales como proteínas, fragmentos de ADN y oligonucleótidos, que tienen en esencia la misma carga pero distinto tamaño. Actualmente, la mayor parte de las separaciones a macroescala se llevan a cabo por la técnica convencional, pero también se llevan a cabo algunas separaciones por electroforesis capilar de especies de diferente tamaño en geles contenidos en un tubo capilar.

El tipo de gel más comúnmente utilizado en electroforesis es un polímero de poli(acrilamida), formado por polimerización de la acrilamida ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$) en presencia de un agente de entrecruzamiento. El tamaño de poro del polímero depende de la relación entre monómero y agente de entrecruzamiento, de manera que al incrementar la cantidad de este último se produce una disminución del tamaño de poro. Otros geles que se han empleado en electroforesis capilar son la agarosa, un polisacárido extraído de un alga marina, la metilcelulosa y el polietilenglicol. En la Figura 30-14 se representa una separación típica de una mezcla estándar de proteínas en un gel de polietilenglicol.

más que en aquellos otros los que se determina la concentración).

La Figura 30-10 ilustra la incomparable rapidez y resolución de las separaciones electroforéticas de aniones pequeños. En el ejemplo, se separaron limpiamente 30 aniones en poco más de 3 minutos, el mismo tiempo que requeriría una separación clásica por intercambio iónico de sólo tres o cuatro aniones. La Figura 30-11 proporciona una segunda ilustración de la rapidez con que se pueden llevar a cabo las separaciones; en ella, se separan 19 cationes en menos de 2 minutos.

Separación de moléculas

Puede separarse y analizarse por CZE una gran variedad de moléculas de pequeño tamaño, tales como herbicidas sintéticos, pesticidas y fármacos, siempre que sean moléculas cargadas o puedan derivatizarse para dar un ion. La Figura 30-12 constituye un ejemplo ilustrativo de la aplicación del método, en el cual se separan en menos de 15 minutos tres antiinflamatorios con estructura de derivados de ácidos carboxílicos.

Proteínas, aminoácidos e hidratos de carbono se han separado en tiempos mínimos por CZE. En

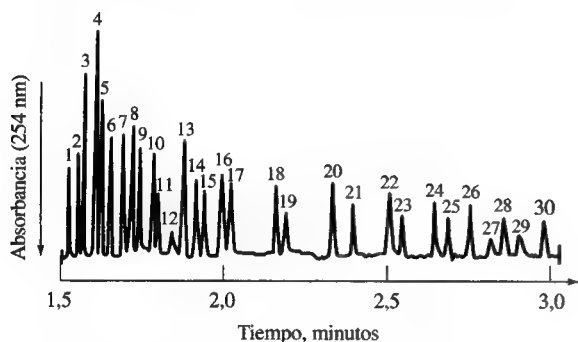


Figura 30-10. Electroforegrama de la separación de 30 aniones. Diámetro interno del capilar: 50 μm (sílice fundida). Detección: UV indirecta, 254 nm. Picos: 1 = tiosulfato (4 ppm), 2 = bromuro (4 ppm), 3 = cloruro (2 ppm), 4 = sulfato (4 ppm), 5 = nitrito (4 ppm), 6 = nitrato (4 ppm), 7 = molibdato (10 ppm), 8 = azida (4 ppm), 9 = wolframato (10 ppm), 10 = monofluorofosfato (4 ppm), 11 = clorato (4 ppm), 12 = citrato (2 ppm), 13 = fluoruro (1 ppm), 14 = formiato (2 ppm), 15 = fosfato (4 ppm), 16 = fosfito (4 ppm), 17 = clorito (4 ppm), 18 = galactarato (5 ppm), 19 = carbonato (4 ppm), 20 = acetato (4 ppm), 21 = etanosulfonato (4 ppm), 22 = propionato (5 ppm), 23 = propanosulfonato (4 ppm), 24 = butirato (5 ppm), 25 = butanosulfonato (4 ppm), 26 = valerato (5 ppm), 27 = benzoato (4 ppm), 28 = *l*-glutamato (5 ppm), 29 = pentanosulfonato (4 ppm), 30 = *d*-gluconato (5 ppm). (Reproducción autorizada de W. A. Jones y P. Jandik, *J. Chromatogr.*, 1991, 546, 445.)

el caso de los hidratos de carbono, que sean compuestos neutros, las separaciones están precedidas por la formación de complejos de borato cargados negativamente, que se forman fácilmente si se emplea un tampón borato como medio de separación. La separación de mezclas de proteínas se muestra en la Figura 30-13.

30C-2. Electroforesis capilar en gel

La electroforesis capilar en gel (CGE) se lleva a cabo generalmente en una matriz polimérica con estructura de gel poroso, cuyos poros contienen una mezcla tampón en la que se lleva a cabo la separación. En los primeros estudios en electroforesis convencional, la principal misión del medio polimérico era reducir la dispersión del analito causada por la difusión y la convección, así como proporcionar un medio adecuado para poder ser manipulado para la detección. Se observó posteriormente que un medio de este tipo puede ejercer una acción de tamiz molecular, retardando la migración de las especies a analizar en diferentes grados, dependiendo del tamaño de poro del polímero y del tamaño de los iones a analizar. Este tipo de efecto de tamiz es especialmente útil en las separaciones de macromoléculas, tales como proteínas, fragmentos de ADN y oligonucleótidos, que tienen en esencia la misma carga pero distinto tamaño. Actualmente, la mayor parte de las separaciones a macroescala se llevan a cabo por la técnica convencional, pero también se llevan a cabo algunas separaciones por electroforesis capilar de especies de diferente tamaño en geles contenidos en un tubo capilar.

El tipo de gel más comúnmente utilizado en electroforesis es un polímero de poli(acrilamida), formado por polimerización de la acrilamida ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$) en presencia de un agente de entrecruzamiento. El tamaño de poro del polímero depende de la relación entre monómero y agente de entrecruzamiento, de manera que al incrementar la cantidad de este último se produce una disminución del tamaño de poro. Otros geles que se han empleado en electroforesis capilar son la agarosa, un polisacárido extraído de un alga marina, la metilcelulosa y el polietilenglicol. En la Figura 30-14 se representa una separación típica de una mezcla estándar de proteínas en un gel de polietilenglicol.

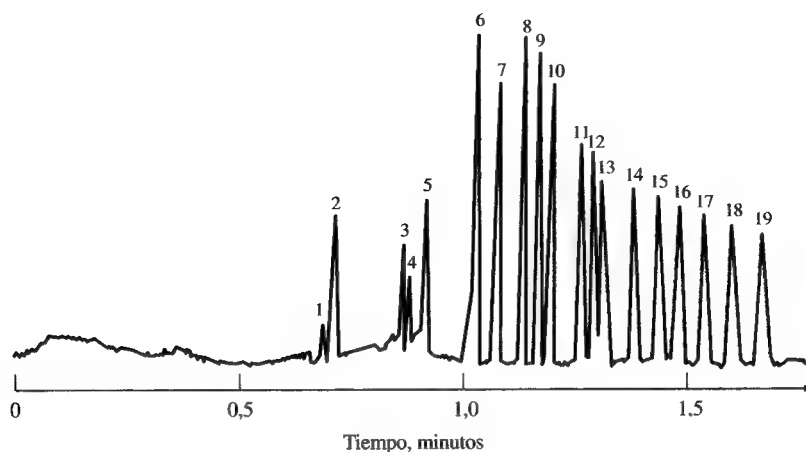


Figura 30-11. Separación de alcalinos, alcalinotérreos y lantánidos. Capilar: 36,5 cm $\times$ 75 μ m, sílice fundida, +30kV. Inyección: hidrostática, 20 s a 10 cm. Detección: UV indirecta, 214 nm. Picos: 1 = rubidio (2 ppm), 2 = potasio (5 ppm), 3 = calcio (2 ppm), 4 = sodio (1 ppm), 5 = magnesio (1 ppm), 6 = litio (1 ppm), 7 = lantano (5 ppm), 8 = cerio (5 ppm), 9 = praseodimio (5 ppm), 10 = neodimio (5 ppm), 11 = samario (5 ppm), 12 = europio (5 ppm), 13 = gadolinio (5 ppm), 14 = terbio (5 ppm), 15 = disprosio (5 ppm), 16 = holmio (5 ppm), 17 = erbio (5 ppm), 18 = tulio (5 ppm), 19 = iterbio (5 ppm). (Reproducción autorizada de P. Jandik, W. R. Jones, O. Weston y P. R. Brown, LC-GC, 1991, 9, 634.)

30C-3. Isotacoforesis capilar

En la isotacoforesis capilar (CITP) las bandas de todos los analitos migran, finalmente, a la misma velocidad; por eso recibe este nombre de *iso*, igual, y *taco*, velocidad. En cualquier aplicación concreta, bien los cationes o bien los aniones pueden ser

separados, pero no ambos al mismo tiempo. En una separación, la muestra se inyecta entre dos tampones; el frontal, que contiene los iones de mayor movilidad y el terminal en el que van los iones de menor movilidad que los iones de la muestra. Por ejemplo, en las separaciones de aniones, los iones cloruro, que se mueven muy rápidamente, van en el tampón conductor o frontal, y los iones de más lenta movilidad, los heptanoato, van en el tampón terminal. Para las separaciones de aniones, la disolución del electrolito conductor se conecta al ánodo y la del terminal se conecta al cátodo.

Cuando en una separación por isotacoforesis se aplica inicialmente un potencial, los iones migran como en la electroforesis de zona, cada ion a una velocidad característica que viene dada por el producto de $\mu_e E$. La diferencia en las velocidades de migración da lugar a la separación de los distintos analitos en bandas adyacentes, con la especie más rápida situada en la banda más próxima al tampón conductor y la más lenta inmediatamente por delante del tampón terminal. Una vez que se han formado todas las bandas, todas ellas se mueven a la misma velocidad. La razón por la que todas las bandas se mueven a la misma velocidad es que el potencial se hace más reducido para las bandas más móviles y se hace más intenso para las bandas más lentas, de tal forma que la corriente es la misma en

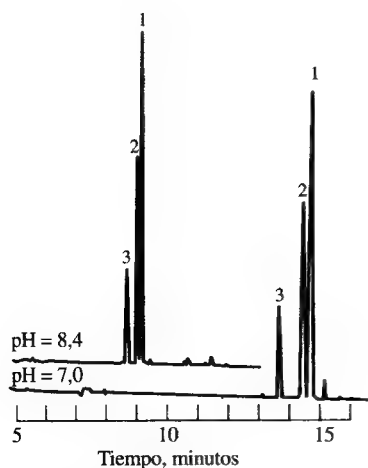


Figura 30-12. Separación de antiinflamatorios por CZE. Detección: absorción a 215 nm. Analitos: (1) naproxeno, (2) ibuprofeno, (3) tolmetina. (Reproducción autorizada de A. Wainright, J. Microcolumn. Sep., 1990, 2, 166.)

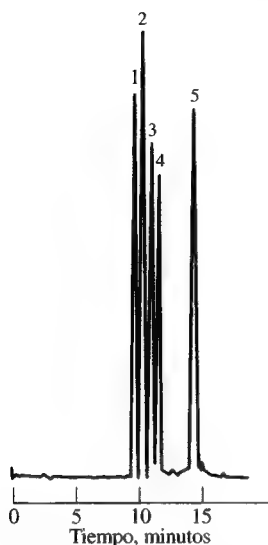


Figura 30-13. Separación por CZE de una mezcla modelo de proteínas. Condiciones: pH del tampón 2,7; la detección de la absorción se realiza a 214 nm; 22 kV, 10 μ A. Los picos identificados se muestran en la siguiente tabla.

Proteínas modelo separadas a pH 2,7			
Pico n.º	Proteínas	Peso Molecular	Punto iso-eléctrico, pI
1	Citocromo c	12.400	10,7
2	Lisozima	14.100	11,1
3	Tripsina	24.000	10,1
4	Tripsinógeno	23.700	8,7
5	Inhibidor de tripsina	20.100	4,5

todas las zonas del tampón. La corriente iónica que se origina como consecuencia del flujo de los iones en el tampón es semejante al de la corriente continua en un circuito formado por varias resistencias conectadas en serie a una pila. En este caso, la corriente debe ser idéntica en todas las resistencias. Por ello, el potencial varía en todas y cada una de ellas según predice la ley de Ohm.

En un experimento de isotacoforesis, cuando se alcanza el equilibrio, se llega a una situación en la cual cada uno de los componentes de la muestra migra en una banda que está intercalada entre aquella más próxima que contiene los iones que se mueven más lentamente y la banda siguiente cuyos iones se mueven más rápidamente, tal como se muestra en la Figura 30-9b. Las separaciones entre las bandas son nítidas. Si un soluto empieza a difundir a la banda próxima más rápida, se encuentra con un campo mas bajo, lo cual reduce su veloci-

dad hasta hacerle caer, de nuevo, en su banda original.

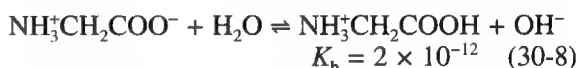
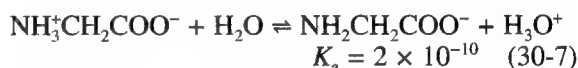
Obsérvese, en la Figura 30-9b que, a diferencia de lo que sucede en la electroforesis de zona o en la cromatografía de elución, las bandas del analito están situadas inmediatamente a continuación las unas de las otras y no están separadas por bandas de tampón.

30C-4. Isoelectroenfoque capilar

El isoelectroenfoque capilar (CIEF) se utiliza para la separación de especies anfóteras como aminoácidos y proteínas, que presentan en su estructura un grupo carboxílico (ácido débil) y un grupo amino (base débil).

Propiedades de los compuestos anfóteros

Un compuesto *anfótero* es una especie que en disolución es capaz tanto de ceder como de aceptar un proton. Un aminoácido como la glicina es un compuesto anfótero. Cuando la glicina se disuelve en agua se originan tres equilibrios mayoritarios:



La primera reacción corresponde a un tipo de equilibrio ácido/base interno y es semejante a la reacción que se observaría entre un ácido carboxílico sencillo y una amina sencilla. Una amina alifática típica tiene una constante de disociación básica de 10^{-4} a 10^{-5} , mientras que muchos ácidos carboxílicos tienen constantes de disociación ácidas del mismo orden de magnitud. Como consecuencia de ello la primera reacción se desplaza bastante hacia la derecha y el producto o productos de la misma predominan en la disolución.

El aminoácido resultante de la reacción correspondiente a la Ecuación 30-6, presenta tanto carga positiva como negativa, y se denomina *ion dipolar* (*zwitterion*). Como se deduce a partir de las constantes de equilibrio de las reacciones correspondientes a las Ecuaciones 30-7 y 30-8, el ion dipolar de la glicina es más fuerte como ácido que como

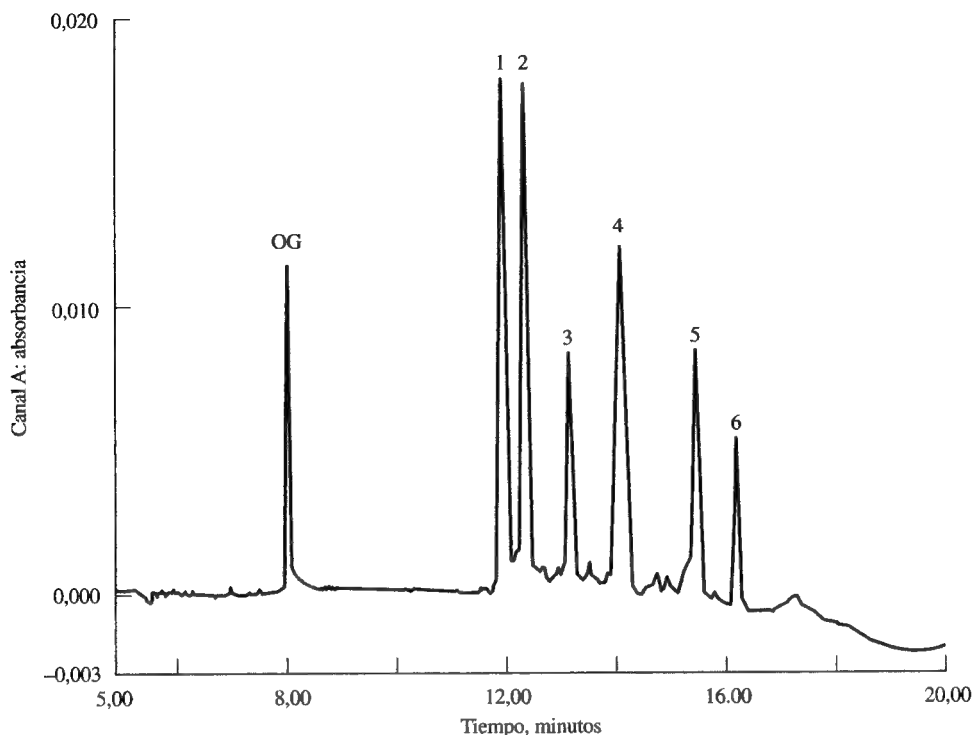


Figura 30-14. Separación por electroforesis capilar en gel de proteínas desnaturalizadas con SDS en columna de polietilenglicol. Detección de la absorción UV a 214 nm. Proteínas: (1) α -lactoalbúmina, (2) inhibidor de la tripsina de la soja, (3) anhidrasa carbónica, (4) ovoalbúmina, (5) seroalbúmina bovina, (6) fosforilasa B. (Reproducción autorizada de Anal. Chem., 1992, 64, 2665.)

base. Así pues, una disolución acuosa de la glicina tendrá cierto carácter ácido.

El ion dipolar de un aminoácido, presenta tanto carga positiva como negativa y no tiene tendencia a migrar en el seno de un campo eléctrico, mientras que las especies catiónicas y aniónicas monocargadas son atraídas por los electrodos de carga opuesta. No se produce migración *neta* de un aminoácido en el seno de un campo eléctrico si el pH del disolvente es tal que las concentraciones de las formas aniónicas y catiónicas son idénticas. El pH al cual no se produce migración *neta* se denomina *punto isoelectrico* (pI), y es una constante física muy importante para la caracterización de aminoácidos. El punto isoelectrico está relacionado con las constantes de ionización de las especies. Así, por ejemplo, para la glicina:

$$K_a = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-]}{[\text{NH}_3^+\text{CH}_2\text{COO}^-]}$$

$$K_b = \frac{[\text{OH}^-][\text{NH}_3^+\text{CH}_2\text{COOH}]}{[\text{NH}_3^+\text{CH}_2\text{COO}^-]}$$

En el punto isoelectrico, se cumple

$$[\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-] = [\text{NH}_3^+\text{CH}_2\text{COOH}]$$

Si se divide K_a entre K_b y se sustituye esta relación, se obtiene para el punto isoelectrico:

$$\frac{K_a}{K_b} = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-]}{[\text{OH}^-][\text{NH}_3^+\text{CH}_2\text{COOH}]} = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+]}{[\text{OH}^-]}$$

Si se sustituye $[\text{OH}^-]$ por $K_w/[\text{H}_3\text{O}^+]$ y se reordena la ecuación, entonces

$$[\text{H}_3\text{O}^+] = \sqrt{\frac{K_a K_w}{K_b}}$$

El punto isoelectrico pI de la glicina se produce a pH 6,0, como se deduce del siguiente cálculo:

$$[\text{H}_3\text{O}^+] = \left(\frac{2 \times 10^{-10}}{2 \times 10^{-12}} \times 1 \times 10^{-14} \right)^{1/2} = 1 \times 10^{-6}$$

$$\text{pI} = -\log 1 \times 10^{-6} = 6$$

Separación de especies anfóteras

En las separaciones isoelectricas de especies anfóteras, la separación se lleva a cabo en una mezcla de tampones cuyo pH varía continuamente a lo largo del sistema de separación. Este gradiente de pH se crea por mezcla de diferentes *anfolitos* en disolución acuosa. Los anfolitos son compuestos anfóteros, que normalmente contienen grupos ácido carboxílico y grupos amino. Existen comercializadas, o bien se pueden preparar mezclas de anfolitos que cubren diferentes intervalos de pH.

Para llevar a cabo un experimento de isoelectroenfoque en un tubo capilar, la mezcla de analitos se disuelve en una disolución diluida de los anfolitos, la cual se transfiere entonces al capilar. Uno de los extremos del capilar se introduce en una disolución de una base fuerte, por ejemplo hidróxido de sodio, en la cual se aloja también el cátodo. El otro extremo del capilar se sumerge en una disolución de un ácido fuerte, como por ejemplo el ácido fosfórico, en la cual se aloja también el ánodo. Cuando se aplica el potencial, los hidrogeniones empiezan a migrar desde el compartimento anódico al catódico y los iones hidróxido del cátodo comienzan a desplazarse en sentido contrario. Si uno de los componentes del anfolito, o bien del analito, tiene carga neta negativa, migra hacia el ánodo. Durante esta migración, la especie atraviesa regiones de pH descendente, donde se produce su protonación progresiva, lo cual hace descender su carga negativa. En un determinado momento, la especie alcanzará un valor de pH donde su carga neta sea cero, correspondiente a su punto isoelectrico, cesando su migración. Este proceso tiene lugar para cada uno de los anfolitos, y finalmente da lugar a un gradiente continuo de pH a lo largo del capilar. Los analitos también migran, hasta alcanzar una zona de pH que coincide con su punto isoelectrico. Estos procesos tienen como resultado la separación de los analitos en bandas estrechas, situadas en el valor de pH correspondiente a su punto isoelectrico (véase Fig. 30-9c), lográndose un enfoque muy nítido. Nótese que las separaciones por isoelectroenfoque se basan en las diferencias entre las constantes de equilibrio de los analitos (K_a , K_b) en vez de en las diferencias entre sus velocidades de migración. Una vez que cada analito ha alcanzado la región donde es neutro, las posiciones de las bandas se mantienen constantes y no cambian con el tiempo.

Movilización de las bandas enfocadas

Para poder detectar las bandas enfocadas en una separación por isoelectroenfoque capilar, es necesario desplazar o *movilizar* el contenido del capilar, y hacer así que las bandas alcancen el detector situado en el extremo de aquél. La movilización puede llevarse a cabo aplicando una diferencia de presión, de la misma manera que para cargar la muestra, o puede efectuarse simplemente mediante el cambio de la disolución del compartimento del electrodo. Durante el proceso del enfoque, deberían haber entrado igual número de H^+ que de OH^- por los extremos opuestos del capilar, de tal forma que el gradiente de pH se mantuviera estable. Supongamos que añadimos cloruro de sodio a la disolución de hidróxido de sodio después de haber finalizado el enfoque. En estas condiciones, tanto los iones Cl^- como los OH^- migrarán desde el extremo hacia el interior del capilar y las concentraciones de ambos estarán equilibradas con las de los H^+ que penetren por el extremo opuesto. De esta manera ahora hay menos OH^- que H^+ fluyendo hacia el interior del capilar y el pH descende en el extremo catódico y el gradiente de pH ya no es estable a lo largo de todo el capilar. Como consecuencia, se produce un desplazamiento hacia el extremo catódico junto con todas las bandas enfocadas. Las bandas que pasan primero por el detector son las que corresponden a las proteínas cuyos puntos isoelectricos son más alcalinos. La Figura 30-15 muestra el electroforegrama correspondiente a la separación de proteínas diversas por isoelectroenfoque capilar. El pI de cada proteína aparece encima de cada pico. La movilización fue llevada a cabo por adición de cloruro de sodio en el compartimento anódico.

30D. ELECTROCROMATOGRAFÍA CAPILAR¹¹

La electrocromatografía es un híbrido de la electroforesis capilar y el HPLC que presenta algunas de las mejores características de cada una de estas dos técnicas. En los comienzos de la década de los ochenta se desarrollaron dos tipos de electrocromatografía capilar: en *columna rellena* y la *capilar electrocinética micelar*. Hasta la fecha, esta

¹¹ Véase R. Weinberger, *Practical Capillary Electrophoresis*, Capítulo 8. New York: Academic Press, 1993.

Separación de especies anfóteras

En las separaciones isoelectricas de especies anfóteras, la separación se lleva a cabo en una mezcla de tampones cuyo pH varía continuamente a lo largo del sistema de separación. Este gradiente de pH se crea por mezcla de diferentes *anfolitos* en disolución acuosa. Los anfolitos son compuestos anfóteros, que normalmente contienen grupos ácido carboxílico y grupos amino. Existen comercializadas, o bien se pueden preparar mezclas de anfolitos que cubren diferentes intervalos de pH.

Para llevar a cabo un experimento de isoelectroenfoque en un tubo capilar, la mezcla de analitos se disuelve en una disolución diluida de los anfolitos, la cual se transfiere entonces al capilar. Uno de los extremos del capilar se introduce en una disolución de una base fuerte, por ejemplo hidróxido de sodio, en la cual se aloja también el cátodo. El otro extremo del capilar se sumerge en una disolución de un ácido fuerte, como por ejemplo el ácido fosfórico, en la cual se aloja también el ánodo. Cuando se aplica el potencial, los hidrogeniones empiezan a migrar desde el compartimento anódico al catódico y los iones hidróxido del cátodo comienzan a desplazarse en sentido contrario. Si uno de los componentes del anfolito, o bien del analito, tiene carga neta negativa, migra hacia el ánodo. Durante esta migración, la especie atraviesa regiones de pH descendente, donde se produce su protonación progresiva, lo cual hace descender su carga negativa. En un determinado momento, la especie alcanzará un valor de pH donde su carga neta sea cero, correspondiente a su punto isoelectrico, cesando su migración. Este proceso tiene lugar para cada uno de los anfolitos, y finalmente da lugar a un gradiente continuo de pH a lo largo del capilar. Los analitos también migran, hasta alcanzar una zona de pH que coincide con su punto isoelectrico. Estos procesos tienen como resultado la separación de los analitos en bandas estrechas, situadas en el valor de pH correspondiente a su punto isoelectrico (véase Fig. 30-9c), lográndose un enfoque muy nítido. Nótese que las separaciones por isoelectroenfoque se basan en las diferencias entre las constantes de equilibrio de los analitos (K_a , K_b) en vez de en las diferencias entre sus velocidades de migración. Una vez que cada analito ha alcanzado la región donde es neutro, las posiciones de las bandas se mantienen constantes y no cambian con el tiempo.

Movilización de las bandas enfocadas

Para poder detectar las bandas enfocadas en una separación por isoelectroenfoque capilar, es necesario desplazar o *movilizar* el contenido del capilar, y hacer así que las bandas alcancen el detector situado en el extremo de aquél. La movilización puede llevarse a cabo aplicando una diferencia de presión, de la misma manera que para cargar la muestra, o puede efectuarse simplemente mediante el cambio de la disolución del compartimento del electrodo. Durante el proceso del enfoque, deberían haber entrado igual número de H^+ que de OH^- por los extremos opuestos del capilar, de tal forma que el gradiente de pH se mantuviera estable. Supongamos que añadimos cloruro de sodio a la disolución de hidróxido de sodio después de haber finalizado el enfoque. En estas condiciones, tanto los iones Cl^- como los OH^- migrarán desde el extremo hacia el interior del capilar y las concentraciones de ambos estarán equilibradas con las de los H^+ que penetren por el extremo opuesto. De esta manera ahora hay menos OH^- que H^+ fluyendo hacia el interior del capilar y el pH descende en el extremo catódico y el gradiente de pH ya no es estable a lo largo de todo el capilar. Como consecuencia, se produce un desplazamiento hacia el extremo catódico junto con todas las bandas enfocadas. Las bandas que pasan primero por el detector son las que corresponden a las proteínas cuyos puntos isoelectricos son más alcalinos. La Figura 30-15 muestra el electroforegrama correspondiente a la separación de proteínas diversas por isoelectroenfoque capilar. El pI de cada proteína aparece encima de cada pico. La movilización fue llevada a cabo por adición de cloruro de sodio en el compartimento anódico.

30D. ELECTROCROMATOGRAFÍA CAPILAR¹¹

La electrocromatografía es un híbrido de la electroforesis capilar y el HPLC que presenta algunas de las mejores características de cada una de estas dos técnicas. En los comienzos de la década de los ochenta se desarrollaron dos tipos de electrocromatografía capilar: en *columna rellena* y la *capilar electrocinética micelar*. Hasta la fecha, esta

¹¹ Véase R. Weinberger, *Practical Capillary Electrophoresis*, Capítulo 8. New York: Academic Press, 1993.

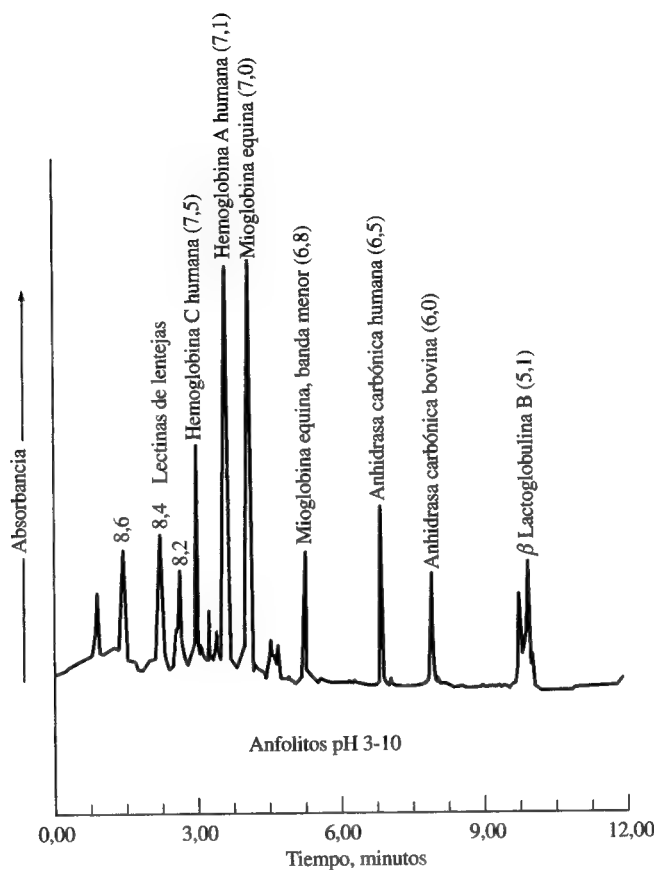


Figura 30-15. Isoelectroenfoque capilar de proteínas. Los puntos isoelectrónicos, pI, aparecen junto a cada uno de los picos. Detección por absorción UV. (Reproducción autorizada de T. Wehr, M. Zhu, R. Rodríguez, D. Burke y K. Duncan, Amer. Biotech. Lab., 1990, 8(11), 22.)

última modalidad es la que tiene unas aplicaciones más amplias.

La electrocromatografía capilar (CEC) parece tener varias ventajas sobre las técnicas de las que procede. Primero, como en HPLC, se puede utilizar para la separación de especies no cargadas. Segundo, como en electroforesis capilar, proporciona una elevada eficacia en las separaciones, de microvolúmenes de disolución de muestra, sin necesidad de aplicar un sistema de bombeo de alta presión. En electrocromatografía, la fase móvil se transporta a través de la fase estacionaria por el bombeo ejercido por el flujo electroosmótico y no por un bombeo mecánico, lo que simplifica notablemente el equipo. Además, el sistema de bombeo electroosmótico origina un perfil de flujo plano, como se muestra en la Figura 30-3a, en lugar de un perfil de flujo hidrodinámico, que se muestra en la Figura

30-3b. El perfil de flujo plano conduce a un menor ensanchamiento de banda que en el flujo hidrodinámico, y por tanto la eficacia de la separación es mucho mayor.

30D-1. Electrocromatografía en columna rellena

La electrocromatografía en columna rellena es la menos desarrollada dentro de las diversas técnicas de electroseparación. En este método, un disolvente polar se conduce por el flujo electroosmótico a través de un capilar que contiene un relleno típico de HPLC en fase inversa. Las separaciones dependen de la distribución de los analitos entre la fase móvil y la fase estacionaria líquida retenida por el

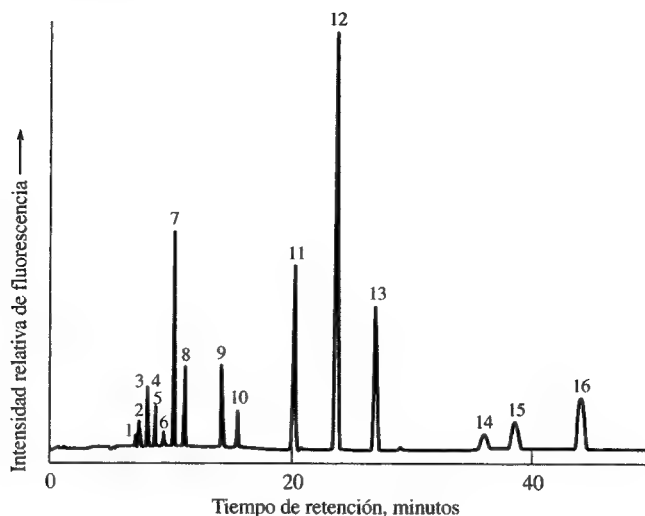


Figura 30-16. Electrochromatograma en el que se muestra la separación electrocromatográfica de 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH). Los picos se identificaron como a continuación se indica: (1a concentración de cada compuesto es $\sim 10^{-6}$ a 10^{-8} M): (1) naftaleno, (2) acenaftileno, (3) acenafteno, (4) fluoreno, (5) fenantreno, (6) antraceno, (7) fluoranteno, (8) pireno, (9) benzo[*a*]antraceno, (10) criseno, (11) benzo[*b*]fluoranteno, (12) benzo[*k*]fluoranteno, (13) benzo[*a*]pireno, (14) dibenzo[*a,h*]antraceno, (15) benzo[*ghi*]perileno y (16) indeno[1,2,3-*cd*]pireno. (Reproducción autorizada de C. Yan, R. Dadoo, H. Zhao, D. J. Rakestroaw y R. N. Zare, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 2026.)

relleno. La Figura 30-16 muestra un electrocromatograma típico, correspondiente a la separación de 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos en un capilar de 33 cm de longitud y diámetro interno de 75 μm . La fase móvil fue una disolución de acetonitrilo en borato de sodio 4 mM. La fase estacionaria se compone de partículas de sílice octadecilsilada de 3 μm .

30D-2. Cromatografía capilar electrocinética micelar¹²

Los métodos de electroforesis capilar que hemos descrito hasta ahora no son aplicables a la separación de solutos no cargados. Sin embargo, en 1984 Terabe y colaboradores¹³ describieron una modifi-

cación del método que permitía la separación de fenoles y niotroderivados aromáticos de bajo peso molecular con un equipo similar al mostrado en la Figura 30-1. Esta técnica implica la introducción de un tensioactivo, como por ejemplo el dodecil sulfato de sodio (SDS), en un nivel de concentración en el cual se formen *micelas*. Las micelas se forman en disolución acuosa cuando la concentración de las sustancias tensioactivas que tienen una larga cadena hidrocarbonada y un grupo iónico se incrementa por encima de un cierto valor denominado *concentración micelar crítica* (CMC). En este momento, los iones empiezan a formar agregados esféricos, de entre 40 y 100 iones, cuyas cadenas hidrocarbonadas se orientan hacia el interior mientras que los extremos cargados quedan orientados hacia el exterior, en contacto con el agua. Las micelas constituyen una segunda fase estable que es capaz de alojar compuestos no polares en el interior de la micela, entre las cadenas hidrocarbonadas, *solubilizando* así compuestos no polares. La

ción de separaciones por esta técnica, véase J. P. Foley, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 1302.

¹² Puede encontrarse un tratamiento más extenso de la cromatografía capilar electrocinética en S. Terabe: «Electrokinetic Chromatography: An Interface between Electrophoresis and Chromatography», *Trends Anal. Chem.* **1989**, 8, 129.

¹³ S. Terabe, K. Otsuka, K. Ichikawa, A. Tsuchiya y T. Ando, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, 111; S. Terabe, K. Otsuka y T. Ando, *Anal. Chem.*, **1985**, 57, 841. En cuanto a la optimiza-

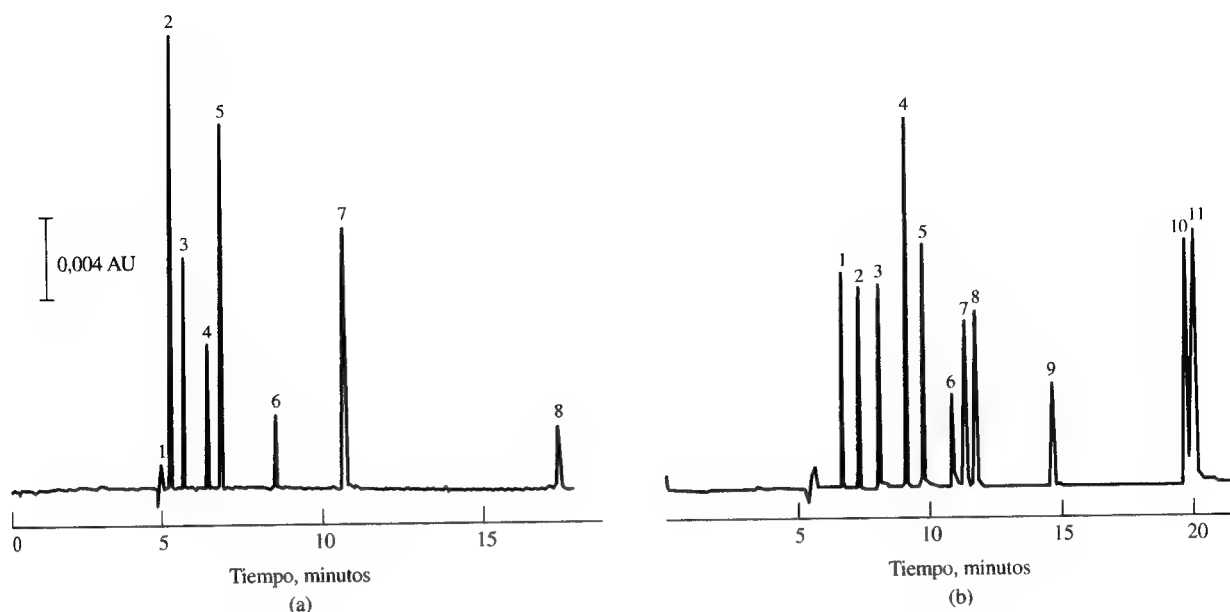


Figura 30-17. Separación típica por MECC. (a) algunos compuestos de ensayo: 1 = metanol, 2 = resorcinol, 3 = fenol, 4 = *p*-nitroanilina, 5 = nitrobenzeno, 6 = tolueno, 7 = 2-naftol, 8 = Sudan III; capilar de diámetro interno de 0,05 mm, 500 mm de longitud hasta el detector; voltaje aplicado ca. 15 kV; detección: absorción a 210 nm. (b) análisis de un antigripal: 1 = acetaminofeno, 2 = cafeína, 3 = sulpirida, 4 = naproxeno, 5 = guaifenesina, 10 = noscapina, 11 = clorfeniramina y tipecidina. Voltaje aplicado: 20 kV; capilar de las mismas características que en (a); detección: absorción a 220 nm. (Reproducción autorizada de S. Terube, Trends Anal. Chem., 1989, 8, 129.)

solubilización se produce, habitualmente, cuando se lava con una disolución detergente un material o una superficie grasa.

Cuando la electroforesis capilar se lleva a cabo en presencia de micelas se denomina *cromatografía capilar electrocinética micelar* y se designa con las siglas MECC o MEKC. En esta técnica, los tensioactivos se añaden al tampón en cantidades que superen el valor de la concentración micelar crítica. Hasta la fecha, en la mayoría de las aplicaciones el tensioactivo utilizado es el dodecil sulfato de sodio. La superficie de una micela de este tipo es aniónica y posee una elevada carga negativa, lo cual hace que tenga una movilidad electroforética alta, desplazándose hacia el electrodo positivo. Sin embargo, la mayoría de los tampones presentan una velocidad de flujo electroosmótico hacia el electrodo negativo tan alta que hace que las micelas aniónicas también se desplacen hasta este electrodo, pero a una velocidad muy reducida. Así, en la práctica, la mezcla tampón está formada por iones de la fase acuosa que se desplazan más rápidamente y la fase micelar que se mueve más lentamente. Cuando una muestra se introduce en este medio los distintos componentes se distribuyen en-

tre la fase acuosa y la fase hidrocarbonada del interior de las micelas. Las situaciones resultantes de estos equilibrios de distribución dependerán de la polaridad de los solutos. Si los solutos son polares se ve favorecida su permanencia en la fase acuosa, Si los compuestos son no polares, el entorno preferido es el hidrocarbonado de la micela.

El sistema anteriormente descrito es bastante similar al que tiene lugar en una columna cromatográfica de reparto líquido, excepto que la «fase estacionaria» se va desplazando también a lo largo de la columna, pero a una velocidad mucho más lenta que la fase móvil. El mecanismo por el cual se produce la separación es idéntico en ambos casos y depende de las diferencias de los coeficientes de distribución de los analitos entre la fase móvil acuosa y la *fase pseudoestacionaria* hidrocarbonada. El proceso que tiene lugar es una verdadera cromatografía y de ahí el nombre de *cromatografía capilar electrocinética micelar*. La Figura 30-17 muestra dos separaciones típicas por MECC.

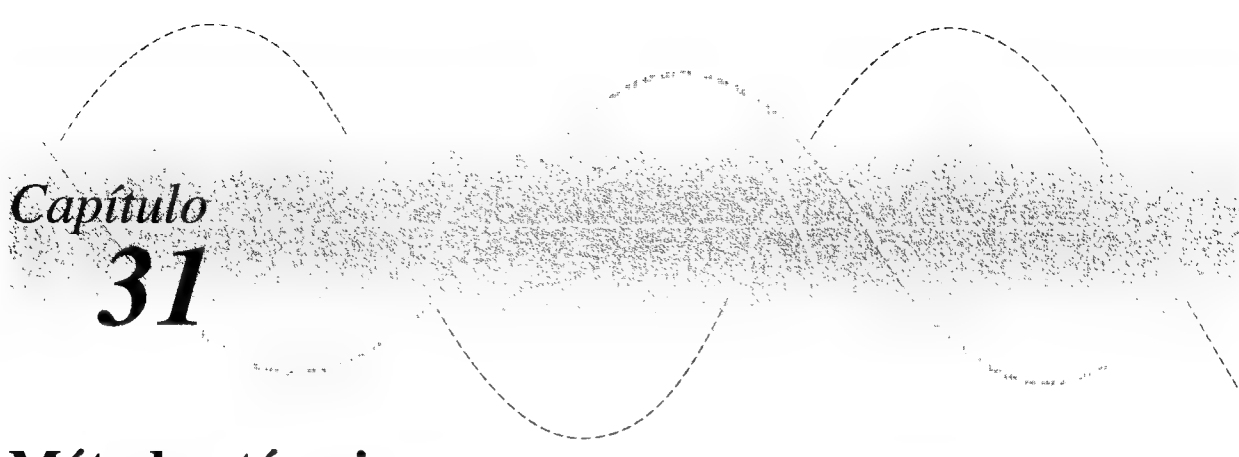
La cromatografía capilar en presencia de micelas parece tener un futuro muy prometedor. Una ventaja de esta técnica híbrida sobre el HPLC es que las eficacias de la columna son mucho más ele-

vadas (100.000 platos o más). Además, cambiar la segunda fase en la MECC es sencillo, sólo es necesario cambiar la composición de la micela en el

tampón, al contrario que en el HPLC donde la segunda fase sólo puede modificarse mediante el cambio del tipo de relleno de la columna.

30E. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 30-1.** ¿Qué es el flujo electroosmótico? ¿Por qué tiene lugar?
- 30-2.** Sugiera una manera de evitar el fenómeno de flujo electroosmótico.
- 30-3.** ¿Por qué el pH afecta a las separaciones de aminoácidos por electroforesis?
- 30-4.** ¿Cuál es el fundamento de la separación por electroforesis capilar de zona?
- 30-5.** ¿Cuál es el fundamento de la cromatografía capilar electrocinética micelar? ¿En qué se diferencia de la electroforesis capilar de zona?
- 30-6.** Describa una ventaja importante de la cromatografía capilar electrocinética micelar respecto a la cromatografía líquida convencional.



Capítulo 31

Métodos térmicos

La definición generalmente aceptada de **análisis térmico** es: «un grupo de técnicas en las que se mide una propiedad física de una sustancia y/o de sus productos de reacción en función de la temperatura mientras la sustancia se somete a un programa de temperatura controlado»¹. Se pueden distinguir más de una docena de métodos térmicos, que difieren en las propiedades medidas y en los programas de temperatura². Estos métodos encuentran una amplia aplicación tanto en el control de calidad como en investigación de productos industriales, tales como polímeros, productos farmacéuticos, arcillas y minerales, metales y aleaciones. La discusión se centrará básicamente en tres métodos que proporcionan información química básica más que información física acerca de las muestras de materiales. Estos métodos incluyen la

termogravimetría (TG), el análisis térmico diferencial (DTA) y la calorimetría de barrido diferencial (DSC).

31A. MÉTODOS TERMOGRAVIMÉTRICOS (TG)

En un análisis termogravimétrico se registra continuamente la masa de una muestra, colocada en una atmósfera controlada, en función de la temperatura o del tiempo al ir aumentando la temperatura de la muestra (normalmente de forma lineal con el tiempo). La representación de la masa o del porcentaje de masa en función del tiempo se denomina *termograma* o *curva de descomposición térmica*³.

31A-1. Instrumentación

Los instrumentos comerciales modernos empleados en termogravimetría constan de: (1) una balanza analítica sensible, (2) un horno, (3) un sistema de gas de purga para proporcionar una atmósfera inerte (o algunas veces reactiva) y (4) un micropro-

¹ R. C. Mackenzie, *Thermochim. Acta*, **1979**, 28, 1.

² Para una descripción detallada de la mayoría de estas técnicas, véase W. W. Wendlandt, *Thermal Analysis*, 3.^a ed. New York: Wiley, 1985; M. E. Brown, *Introduction to Thermal Analysis: Techniques and Applications*. New York: Chapman y Hall, 1988; B. Wunderlich, *Thermal Analysis*. Boston: Academic Press, 1990; P. J. Haines, *Thermal Methods of Analysis*, London: Blackie, 1995.

³ Para una breve revisión de la termogravimetría, véase C. M. Earnest, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, 1471A.

cesador/microordenador para el control del instrumento y la adquisición y visualización de datos. Además, existe la opción de añadir un sistema para cambiar el gas de purga en las aplicaciones en las que este gas debe cambiarse durante el experimento.

La balanza

Están comercialmente disponibles diferentes diseños de termobalanzas que son capaces de proporcionar información cuantitativa sobre muestras cuyas masas van desde 1 mg hasta 100 g. Sin embargo, el tipo de balanza más común tiene tan sólo un intervalo entre 5 y 20 mg. Si bien el soporte de la muestra debe estar alojado en el horno, el resto de la balanza debe estar aislado térmicamente del horno. La Figura 31-1 muestra el esquema de un diseño de una termobalanza. Un cambio en la masa de la muestra provoca una desviación del brazo, que cierra el paso de la luz entre una lámpara y uno de los dos fotodiodos. El desequilibrio resultante en la corriente fotodiodica se amplifica y alimenta la bobina *E*, que está situada entre los polos de un imán permanente *F*. El campo magnético generado por la corriente en la bobina devuelve al brazo a su posición original. La corriente amplificada del fotodiodo se recoge y transforma en información sobre la masa o pérdida de masa en el sistema de adquisición de datos. En la mayoría de los casos los datos de masa frente a temperatura pueden representarse inmediatamente o almacenarse para una posterior manipulación o visualización.

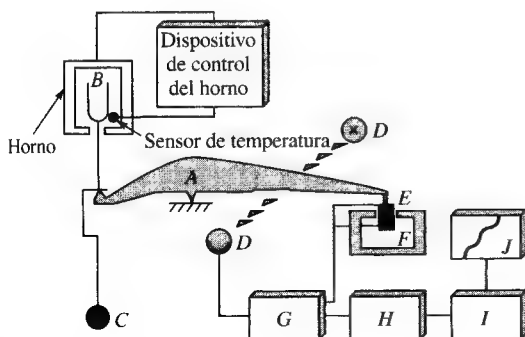


Figura 31-1. Componentes de una termobalanza: A, brazo; B, copa y soporte de la muestra; C, contrapeso; D, lámpara y fotodiodos; E, bobina; F, imán; G, control del amplificador; H, calculador de la tara; I, amplificador; J, registro. (Cortesía de Mettler Instrument Corp., Hightstown, NJ.)

El horno

El intervalo de temperatura para la mayoría de los hornos para termogravimetría va desde la temperatura ambiente hasta 1.500 °C. A menudo se pueden variar las velocidades de calentamiento o enfriamiento del horno desde aproximadamente cero hasta valores tan elevados como 200 °C/min. Para evitar la transferencia de calor a la balanza es necesario aislar y refrigerar el exterior del horno. Normalmente se utiliza nitrógeno o argón para purgar el horno y evitar la oxidación de la muestra. En algunos análisis es necesario cambiar los gases de purga a lo largo del análisis. La Figura 31-2 muestra un ejemplo en el que el gas de purga se cambió automáticamente de nitrógeno a oxígeno y posteriormente se volvió a nitrógeno. La muestra en este caso era un carbón bituminoso. Se utilizó el nitrógeno durante los primeros 18 minutos mientras se registraba el contenido en humedad y el porcentaje de volátiles. A continuación se cambió el gas por oxígeno durante 4 o 5 minutos, lo que provocó la oxidación del carbón a dióxido de carbono y finalmente se llevó a cabo una purga con nitrógeno que permitió medir el contenido en cenizas.

Control del instrumento y manipulación de los datos

La temperatura registrada en un termograma es idealmente la temperatura real de la muestra. Esta

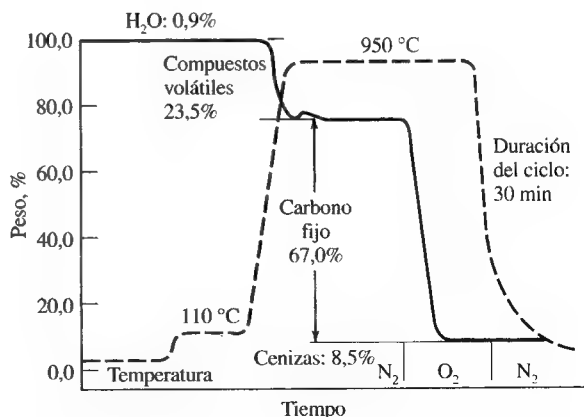


Figura 31-2. Termograma en atmósfera controlada de una muestra de carbón bituminoso. Se utilizó una atmósfera de nitrógeno durante aproximadamente 18 minutos seguida de una atmósfera de oxígeno durante 4 o 5 minutos. El análisis se completó con nitrógeno. (Reproducción autorizada de C. M. Earnest, Anal. Chem., 1984, 56, 1478A. Copyright 1984 American Chemical Society.)

temperatura puede, en principio, obtenerse introduciendo un pequeño termopar directamente en la muestra. Sin embargo, este procedimiento rara vez se sigue debido a las posibles descomposiciones catalíticas de las muestras, a las potenciales contaminaciones de las mismas y a los errores de pesada que provienen de las terminales del termopar. Debido a estos problemas, las temperaturas registradas se miden generalmente con un pequeño termopar localizado lo más cerca posible del recipiente de la muestra. Las temperaturas registradas tienen entonces, en general, un retraso o adelanto con respecto a la temperatura real de la muestra.

Las termobalanzas modernas utilizan normalmente un ordenador para el control de rutina de la temperatura, que compara automáticamente la tensión de salida del termopar con una tabla que se almacena en la memoria ROM y que relaciona las tensiones con las temperaturas. El microordenador utiliza la diferencia entre la temperatura del termopar y la temperatura especificada en la memoria ROM para ajustar la tensión del calentador. Utilizando este método es posible alcanzar una concordancia excelente entre el programa de temperaturas y la temperatura de la muestra. La reproducibilidad de barrido a barrido típica de un programa concreto es de $\pm 2^\circ\text{C}$ en todo el intervalo de operación del instrumento.

31A-2. Aplicaciones

La información que proporcionan los métodos termogravimétricos es más limitada que la que se obtiene con los otros dos métodos térmicos descritos en este capítulo, ya que en este método una variación de temperatura tiene que causar un cambio en la masa del analito. Por tanto, los métodos termogravimétricos están limitados en su mayor parte a las reacciones de descomposición y de oxidación y a procesos tales como la vaporización, la sublimación y la desorción.

Quizá las aplicaciones más importantes de los métodos termogravimétricos se encuentran en el estudio de polímeros. Los termogramas proporcionan información sobre los mecanismos de descomposición de diversas preparaciones poliméricas. Además, los patrones de descomposición son característicos de cada tipo de polímero y, en algunos casos, pueden ser utilizados con finalidades de identificación. La Figura 31-3 muestra los patrones

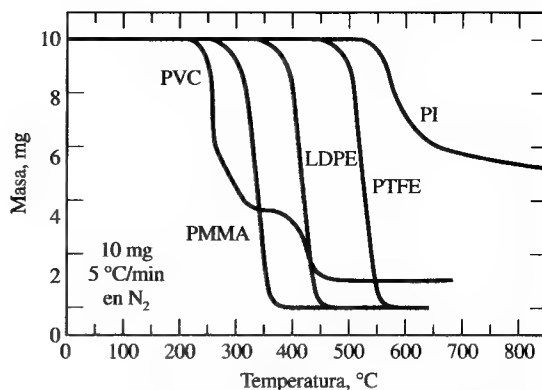


Figura 31-3. Termogramas de algunos materiales poliméricos comunes. PVC = cloruro de polivinilo; PMMA = metacrilato de polimetilo; LDPE = polietileno de baja densidad; PTFE = politetrafluoroetileno; PI = polipirometilimida aromática. (De J. Chiu, en *Thermoanalysis of Fiber-Forming Polymers*, R. F. Schwenker, Ed., pág. 26. New York: Interscience, 1966. Reproducción autorizada de John Wiley & Sons, Inc.)

de descomposición de cinco polímeros obtenidos por termogravimetría.

La Figura 31-4 ilustra cómo se puede utilizar un termograma para el análisis cuantitativo de un material polimérico. La muestra es un polietileno que ha sido dopado con partículas finas de carbón para inhibir la degradación ocasionada por la exposición a la luz solar. Este análisis sería difícil por la mayor parte de los otros métodos analíticos.

La Figura 31-5 muestra el termograma que se ha obtenido al aumentar la temperatura del $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ puro a una velocidad de $5^\circ\text{C}/\text{min}$.

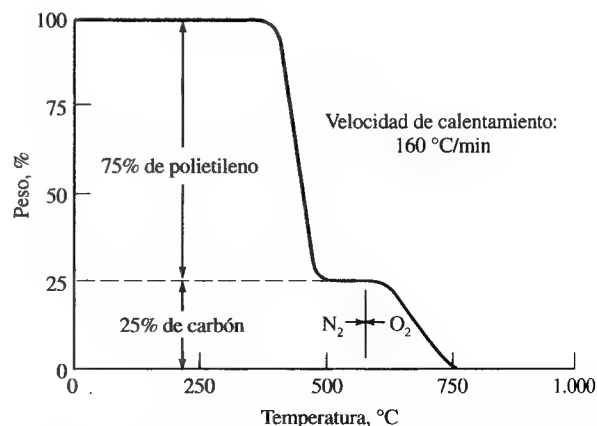


Figura 31-4. Determinación termogravimétrica de carbón en polietileno. (De J. Gibbons, *Amer. Lab.*, 1981, 13, (1), 33. Copyright de 1981 de International Scientific Communications, Inc.)

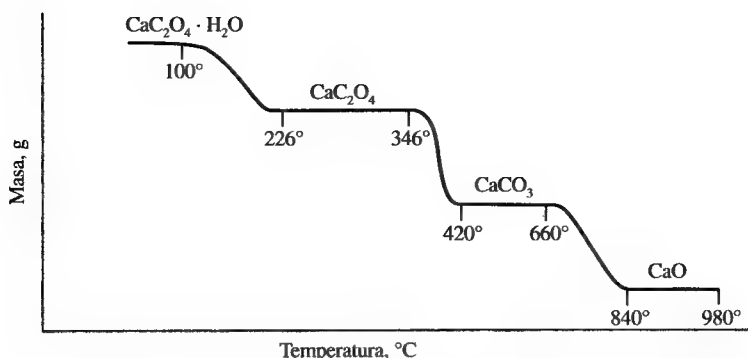


Figura 31-5. Termograma de la descomposición del $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en atmósfera inerte. (Reproducción autorizada de S. Peltier y C. Duval, *Anal. Chim. Acta*, 1947, 1, 345.)

Las regiones horizontales perfectamente definidas corresponden a los intervalos de temperatura en los que los compuestos de calcio que se indican son estables. Esta figura ilustra una de las aplicaciones más importantes de la termogravimetría, que es la definición de las condiciones térmicas necesarias para obtener la forma pura adecuada para la determinación gravimétrica de una especie.

La Figura 31-6a muestra una aplicación de la termogravimetría al análisis cuantitativo de una mezcla de iones calcio, estroncio y bario. Los tres se han precipitado primero como los oxalatos monohidratados. La masa en el intervalo de temperatura entre 320° y 400 °C corresponde a la de los tres compuestos anhidros, CaC_2O_4 , SrC_2O_4 y BaC_2O_4 , mientras que la masa entre 580 y 620 °C corresponde al peso de los tres carbonatos. El cambio de peso en las dos siguientes etapas es debido a la pérdida de dióxido de carbono, formándose primero CaO y a continuación SrO . Del termograma se obtienen suficientes datos para calcular el peso de cada uno de los tres elementos presentes en la muestra.

La Figura 31-6b corresponde a la derivada del termograma mostrado en la Figura 31-6a. Los sistemas de adquisición de datos de los instrumentos más modernos son capaces de proporcionar esta curva al igual que el propio termograma. La curva derivada puede proporcionar información que no es detectable en un termograma ordinario. Por ejemplo, los tres picos a 140, 180 y 205 °C sugieren que los tres hidratos pierden humedad a diferentes temperaturas, sin embargo, todos ellos parecen perder simultáneamente dióxido de carbono y, por tanto, dan un único pico agudo a 450 °C.

31B. ANÁLISIS TÉRMICO DIFERENCIAL (DTA)

El análisis térmico diferencial es una técnica en la que se mide la diferencia de temperatura entre una sustancia y un material de referencia en función de la temperatura cuando la sustancia y el patrón se someten a un programa de temperatura controlado. Normalmente, el programa de temperatura implica el calentamiento de la muestra y del material de referencia de tal manera que la temperatura de la muestra T_s aumenta linealmente con el tiempo. La diferencia de temperatura ΔT entre la temperatura de la muestra y la temperatura de la sustancia de referencia T_r ($\Delta T = T_r - T_s$) se controla y se representa frente a la temperatura de la muestra para dar un termograma diferencial, tal como el que se muestra en la Figura 31-7. El significado de las diferentes partes de esta curva se describe en el Apartado 31B-2.

31B-1. Instrumentación

La Figura 31-8 muestra un esquema del horno de un analizador térmico diferencial. Unos pocos miligramos de muestra (S) y de sustancia de referencia inerte (R) se introducen en pequeños platillos de aluminio, que se colocan encima de unos termopares para la muestra y para la referencia en un horno calentado eléctricamente⁴. El material de re-

⁴ Para una descripción de los instrumentos de DTA que comercializan diferentes casas, véase L. Voreess, *Anal. Chem.*, 1994, 66, 1035A.

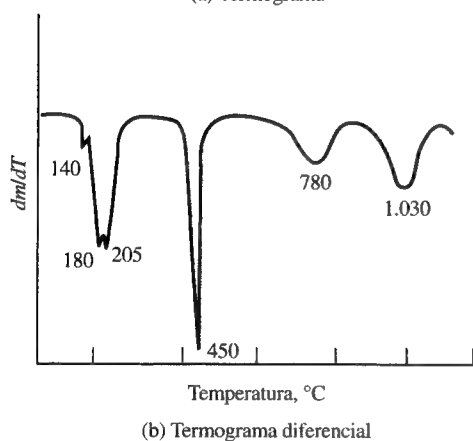
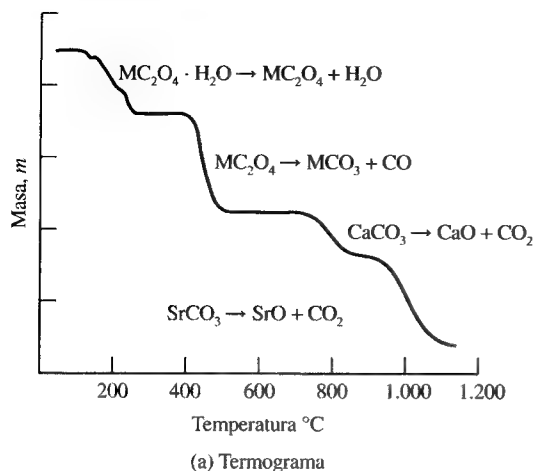


Figura 31-6. Descomposición de $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{SrC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y $\text{BaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. (Reproducción autorizada de L. Erdey, G. Lip-tay, G. Svehla y F. Paulik, *Talanta*, 1962, 9, 490.)

ferencia es una sustancia inerte, tal como la alúmina, el carburo de silicio o bolitas de vidrio.

El potencial de salida E_s del termopar de la muestra pasa a un microordenador que controla la corriente de entrada al horno de tal manera que la temperatura de la muestra aumenta linealmente y a una velocidad predeterminada. La señal del termopar de la muestra se convierte también en temperatura, T_s , y se registra entonces como la abscisa del termograma diferencial. La salida a través de los termopares de la muestra y de la referencia ΔE se amplifica y se convierte en la diferencia de temperatura ΔT , que se utiliza como ordenada del termograma.

Generalmente, las cámaras de la muestra y de la referencia en un aparato para análisis térmico diferencial están diseñadas para permitir la circulación un gas inerte, tal como nitrógeno, o un gas

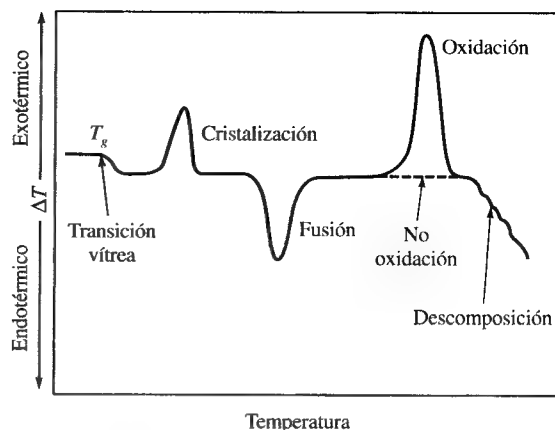


Figura 31-7. Esquema de un termograma diferencial que muestra los tipos de cambios encontrados con materiales poliméricos. (De R. M. Schulken Jr., R. E. Roy Jr. y R. H. Cox, *J. Polymer Sci., Parte C*, 1964, 6, 18. Reproducción autorizada de John Wiley & Sons, Inc.)

reactivo, tal como oxígeno o aire. Algunos sistemas también tienen la capacidad de operar a altas y bajas presiones.

31B-2. Principios generales

La Figura 31-7 muestra un termograma diferencial ideal obtenido por calentamiento de un polímero

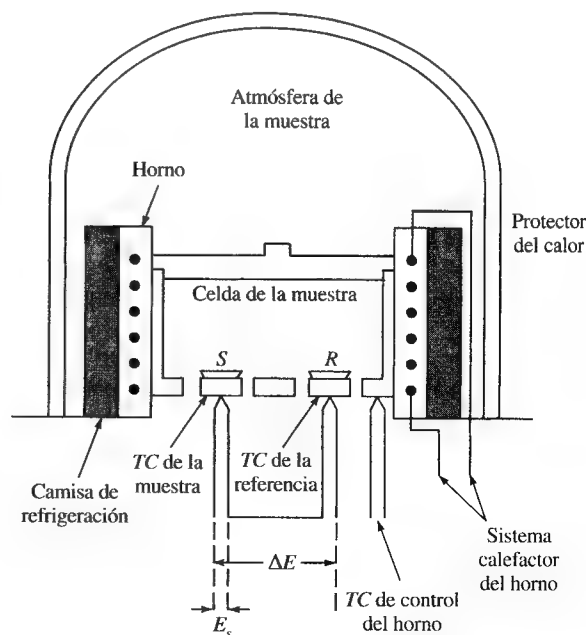


Figura 31-8. Esquema de un instrumento típico para análisis térmico diferencial (TC = termopar).

en un intervalo de temperaturas suficiente para provocar su total descomposición. El descenso inicial de ΔT es debido a la *transición vítrea*, un fenómeno observado inicialmente cuando se calientan la mayoría de los polímeros. La temperatura de transición vítrea T_g es la temperatura característica a la cual los polímeros amorfos vitrificados se hacen flexibles o parecen de goma debido a que se inicia el movimiento coordinado de los largos segmentos de las moléculas del polímero. Al ser calentado a una cierta temperatura T_g , el polímero pasa de vidrio a goma. Esta transición no implica absorción o desprendimiento de calor, por lo que no da lugar a ningún cambio en la entalpía (esto es, $\Delta H = 0$). Sin embargo, la capacidad calorífica de una goma es diferente de la de un vidrio, lo que da lugar a un descenso de la línea de base, tal como se muestra en la figura. Esta transición no produce ningún pico, ya que el cambio de entalpía es cero.

En el termograma de la Figura 31-7 se observan dos máximos y un mínimo, todos ellos se llaman picos. Los dos máximos son el resultado de los procesos exotérmicos en los que el calor se desprende de la muestra, provocando que su temperatura aumente; el mínimo llamado «fusión» es la consecuencia de un proceso endotérmico en el que el calor es absorbido por el analito. Cuando se calientan hasta una temperatura característica, muchos polímeros amorfos empiezan a cristalizar en forma de microcristales, emitiéndose calor en este proceso. La formación de cristales es la responsable del primer pico exotérmico que se muestra en la Figura 31-7. El área de este pico se hace mayor al disminuir la velocidad de calentamiento, ya que en estas circunstancias tienen tiempo de formarse y de crecer más cristales.

El segundo pico de la figura es endotérmico e implica la fusión de los microcristales formados en el proceso exotérmico inicial. El tercer pico es exotérmico y se encuentra sólo si el calentamiento se lleva a cabo en presencia de aire o de oxígeno. Este pico es el resultado de la oxidación exotérmica del polímero. El cambio negativo final en ΔT es debido a la descomposición endotérmica del polímero para dar lugar a una gran variedad de productos.

Como se sugiere en la Figura 31-7, los picos de análisis térmico diferencial son el resultado tanto de cambios físicos como de reacciones químicas inducidas por los cambios de temperatura en la muestra. Entre los procesos físicos que son endotérmicos se incluyen la fusión, la vaporización, la sublimación, la absorción y la desorción. La adsorción

y la cristalización son generalmente exotérmicos. Las reacciones químicas pueden ser exotérmicas o endotérmicas. Entre las reacciones endotérmicas se encuentran la deshidratación, la reducción en una atmósfera gaseosa y la descomposición. Las reacciones exotérmicas incluyen la oxidación en aire u oxígeno, la polimerización y las reacciones catalíticas.

Las áreas de los picos en los termogramas diferenciales dependen de la masa de la muestra, m , de la entalpía, ΔH , del proceso químico o físico y de ciertos factores geométricos y de conductividad calorífica. Estas variables están relacionadas por la ecuación:

$$A = -kGm\Delta H = -k'm\Delta H \quad (31-1)$$

donde A es el área del pico, G es un factor de calibrado que depende de la geometría de la muestra y k es una constante relacionada con la conductividad térmica de la muestra. El convenio de asignación de un signo negativo al cambio de entalpía de un proceso exotérmico justifica el signo negativo en la ecuación. Para una especie dada, k' permanece constante siempre que un cierto número de variables tales como la velocidad de calentamiento, el tamaño de partícula y la colocación de la muestra respecto al termopar estén cuidadosamente controladas. En estas condiciones, la Ecuación 31-1 se puede utilizar para determinar: (1) la masa de un analito concreto si k' y ΔH se pueden determinar mediante calibración y (2) la variación de entalpía si se conocen k' y m .

31B-3. Aplicaciones

El análisis térmico diferencial encuentra amplia utilización en la determinación del comportamiento térmico y de la composición de productos naturales y manufacturados. El número de aplicaciones es impresionante y se puede apreciar examinando la monografía de dos volúmenes y los resúmenes recientes de la revista *Analytical Chemistry*⁵. A continuación se muestran algunas aplicaciones ilustrativas.

El análisis térmico diferencial es una herramienta poderosa y ampliamente utilizada para el

⁵ *Differential Thermal Analysis*, R. C. Mackenzie, Ed. New York: Academic Press, 1970; D. Dollimore, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 63R, **1994**, 66, 17R, **1992**, 64, 147R, **1990**, 62, 44R; **1988**, 60, 274R.

estudio y la caracterización de polímeros. La Figura 31-7 ilustra los tipos de cambios físicos y químicos que pueden ser estudiados en los materiales poliméricos por métodos térmicos diferenciales. Obsérvese que las transiciones térmicas de un polímero a menudo tienen lugar en un extenso intervalo de temperaturas, ya que incluso un polímero puro es una mezcla de homólogos y no es una única especie química.

La Figura 31-9 muestra el termograma diferencial de una mezcla de siete polímeros comerciales. Cada pico corresponde al punto de fusión de uno de los componentes. El politetrafluoroetileno (PTFE) presenta un pico adicional a baja temperatura que proviene de una transición cristalina. Es evidente que el análisis térmico diferencial puede ser utilizado en la identificación de polímeros.

Las medidas térmicas diferenciales han sido utilizadas en estudios sobre el comportamiento térmico de compuestos inorgánicos puros al igual que de otras sustancias inorgánicas, tales como silicatos, ferritas, arcillas, óxidos, cerámicas, catalizadores y vidrios. Se obtiene información de procesos tales como desolvatación, fusión, deshidratación, oxidación, reducción, adsorción y reacciones en estado sólido.

La Figura 31-10 muestra la utilización del análisis térmico diferencial para el estudio del comportamiento térmico de una única especie inorgánica. El termograma diferencial se obtuvo por calentamiento del oxalato de calcio monohidratado en una corriente de aire. Los dos mínimos indican que la muestra llega a estar más fría que el material de referencia como consecuencia de las dos reacciones endotérmicas que están indicadas debajo de los mínimos. El único máximo indica que la oxidación del oxalato de calcio para dar carbonato de calcio y dióxido de carbono es exotérmica. Cuando

se sustituye un gas inerte, tal como el nitrógeno, por aire como gas de purga, se encuentran tres mínimos, ya que la descomposición del oxalato de calcio es ahora endotérmica, siendo los productos carbonato de calcio y monóxido de carbono.

Una de las utilizaciones más importantes del análisis térmico diferencial es la obtención de diagramas de fases y el estudio de las transiciones de fase. En la Figura 31-11 se muestra un ejemplo, que corresponde a un termograma diferencial del azufre, en el cual el pico a 113 °C corresponde al cambio de la fase sólida de la forma rómbica a la monoclinica, mientras que el pico a 124 °C corresponde al punto de fusión del elemento. Se sabe que el azufre líquido existe en al menos tres formas y el pico a 179 °C aparentemente implica estas transiciones, mientras que el pico a 446 °C corresponde al punto de ebullición del azufre.

El método térmico diferencial proporciona una manera sencilla y exacta para determinar los puntos de fusión, ebullición y descomposición de compuestos orgánicos. Generalmente, los resultados parecen ser más consistentes y más reproducibles que los obtenidos con una placa caliente o con un tubo capilar. La Figura 31-12 muestra los termogramas para el ácido benzoico a presión atmosférica (A) y a 14 Kp/cm² (B). El primer pico corresponde al punto de fusión y el segundo al punto de ebullición del ácido.

31C. CALORIMETRÍA DE BARRIDO DIFERENCIAL (DSC)

La calorimetría de barrido diferencial es una técnica térmica en la que se miden las diferencias en la cantidad de calor aportado a una sustancia y a una referencia en función de la temperatura de la muestra cuando las dos están sometidas a un programa de

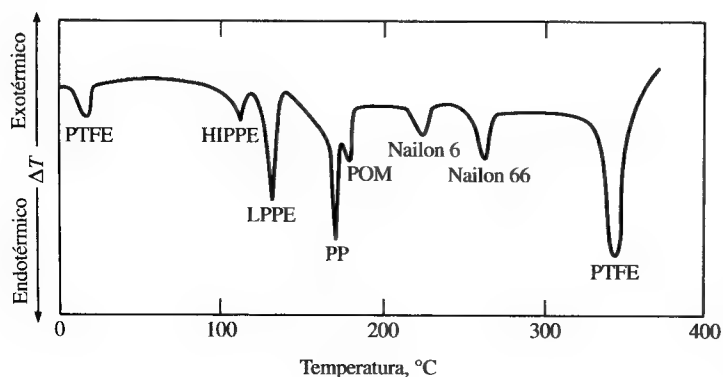
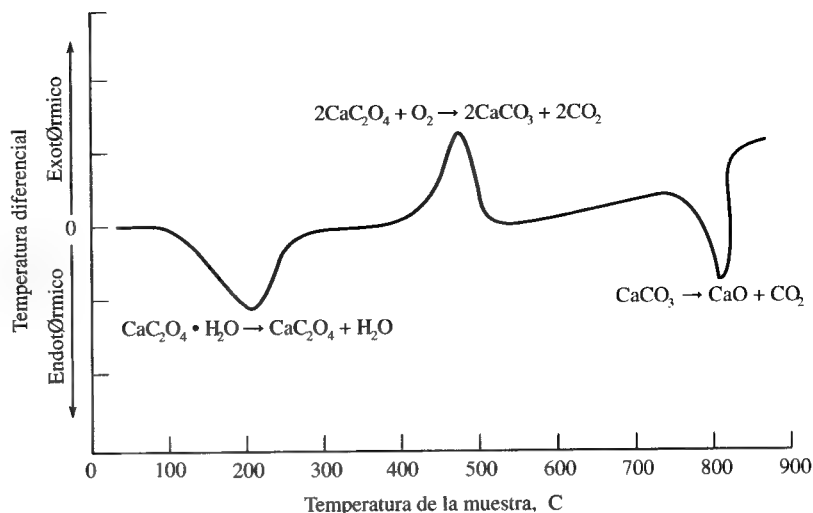


Figura 31-9. Termograma diferencial de una mezcla de siete polímeros. PTFE = politetrafluoroetileno; HIPPE = polietileno de alta presión (baja densidad); LPPE = polietileno de baja presión (alta densidad); PP = polipropileno; POM = polioximetileno. (Reproducción autorizada de J. Chiu, DuPont Thermogram, 1965, 2(3), 9.)

Figura 31-10. Termograma diferencial del $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en presencia de O_2 ; la velocidad de aumento de la temperatura es de $8^\circ\text{C}/\text{min}$. (Reproducción autorizada de Handbook of Analytical Chemistry, L. Meites, Ed., págs. 8-14. New York: McGraw-Hill, 1963.)



temperatura controlado. La diferencia básica entre la calorimetría de barrido diferencial y el análisis térmico diferencial estriba en que el primero es un método calorimétrico en el que se miden diferencias de *energía*. Por el contrario, en análisis térmico diferencial, se registran diferencias de temperatura. Los programas de temperatura para los dos métodos son similares. La calorimetría de barrido diferencial ha sido hasta ahora el método más ampliamente utilizado de todos los métodos térmicos.

31C-1. Instrumentación

Para obtener los datos en calorimetría de barrido diferencial se utilizan dos tipos de métodos. En la

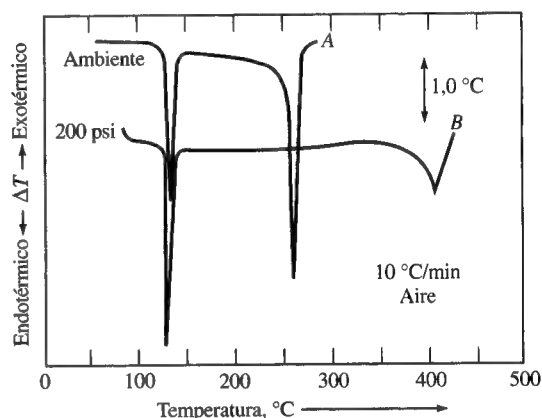


Figura 31-12. Termograma diferencial del ácido benzoico. Curva A: a presión atmosférica; curva B: a $14 \text{ kp}/\text{cm}^2$ (200 psi). (Reproducción autorizada de P. F. Levy, G. Nieuweboer y L. C. Semanski, *Thermochim. Acta*, 1970, 1, 433.)

DSC de potencia compensada la muestra y el material de referencia se calientan por calentadores separados aunque sus temperaturas se mantienen iguales mientras las temperaturas se aumentan (o disminuyen) linealmente. En la *DSC de flujo de calor*, se mide la diferencia en cantidad de calor que fluye hacia la muestra y hacia la referencia cuando la temperatura de la muestra se aumenta (o disminuye) linealmente. A pesar que los dos métodos proporcionan la misma información, la instrumentación de los dos es esencialmente diferente⁶.

⁶ Para una descripción de los diversos instrumentos comercialmente disponibles de ambos tipos, véase D. Noble, *Anal. Chem.*, 1995, 67, 323A.

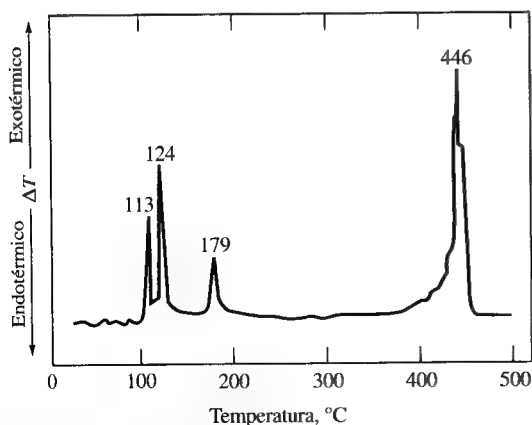


Figura 31-11. Termograma diferencial para el azufre. (Reproducción autorizada de J. Chiu, *Anal. Chem.*, 1963, 35, 933. Copyright de 1963 de American Chemical Society.)

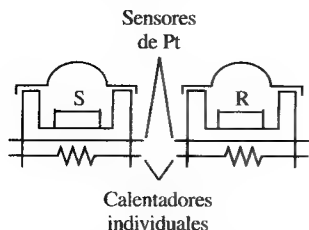


Figura 31-13. Esquema de un soporte de muestra y de los hornos de un DSC. (Cortesía de W. W. Wendlandt, Thermal Analysis, 3.^a ed., pág. 346. New York: Wiley, 1986. Reproducido con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

DSC de potencia compensada

La Figura 31-13 es un esquema que muestra el diseño de un calorímetro de potencia compensada para llevar a cabo medidas de DSC. El instrumento tiene dos hornos independientes, uno para el calentamiento de la muestra y otro para el calentamiento de la referencia. En los modelos comerciales basados en este diseño, los hornos son pequeños, y pesan alrededor de un gramo cada uno, una característica que permite elevadas velocidades de calentamiento, de enfriamiento y de equilibrado. Los hornos están empotrados en un amplio sumidero de calor de temperatura controlada. Sobre los hornos se encuentran los soportes de la muestra y de la referencia, los cuales tienen insertados termómetros de resistencia de platino para controlar continuamente la temperatura de los dos materiales.

Para la obtención de los termogramas diferenciales con el instrumento que se muestra en la Figura 31-13, se utilizan dos circuitos de control, uno para el control de la temperatura promedio y el otro

para el control de la temperatura diferencial. En el circuito de control de la temperatura promedio, el programador proporciona una señal eléctrica que es proporcional a la temperatura promedio deseada de los soportes de la muestra y de la referencia en función del tiempo. Esta señal se compara en un ordenador con el promedio de las señales de los detectores de la muestra y de la referencia empotrados en los soportes de la muestra y de la referencia. Cualquier diferencia entre la señal del programador y la señal promedio de los sensores de platino se utiliza para ajustar la temperatura promedio de la muestra y la referencia. La temperatura promedio sirve de abscisa del termograma.

En el circuito de temperatura diferencial, las señales de los sensores de resistencia de platino de la muestra y de la referencia alimentan un amplificador diferencial por medio de un circuito de comparador que determina cuál es mayor. La salida del amplificador ajusta entonces la potencia de entrada de los dos hornos de manera que sus temperaturas se mantengan idénticas. Esto es, durante el experimento, la muestra y la referencia son isotermas. Una señal que es proporcional a la diferencia en la potencia de entrada a los dos hornos, se transmite al sistema de adquisición de datos. Esta diferencia en la potencia, normalmente en miliwatios, es la información que se representa con más frecuencia en función de la temperatura de la muestra.

DSC de flujo de calor

La Figura 31-14 muestra un esquema de una celda de DSC de flujo de calor comercial. El calor fluye tanto hacia la muestra como hacia el material de

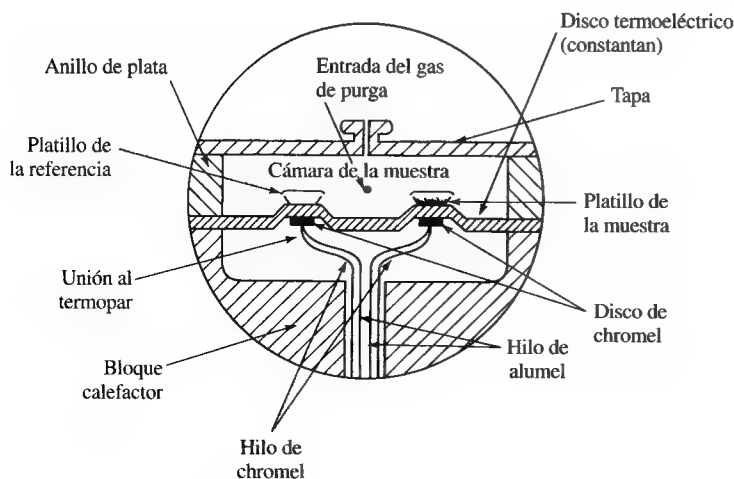


Figura 31-14. Esquema de una celda de DSC de flujo de calor. (Cortesía de DuPont Instrument Systems, Wilmington, DE.)

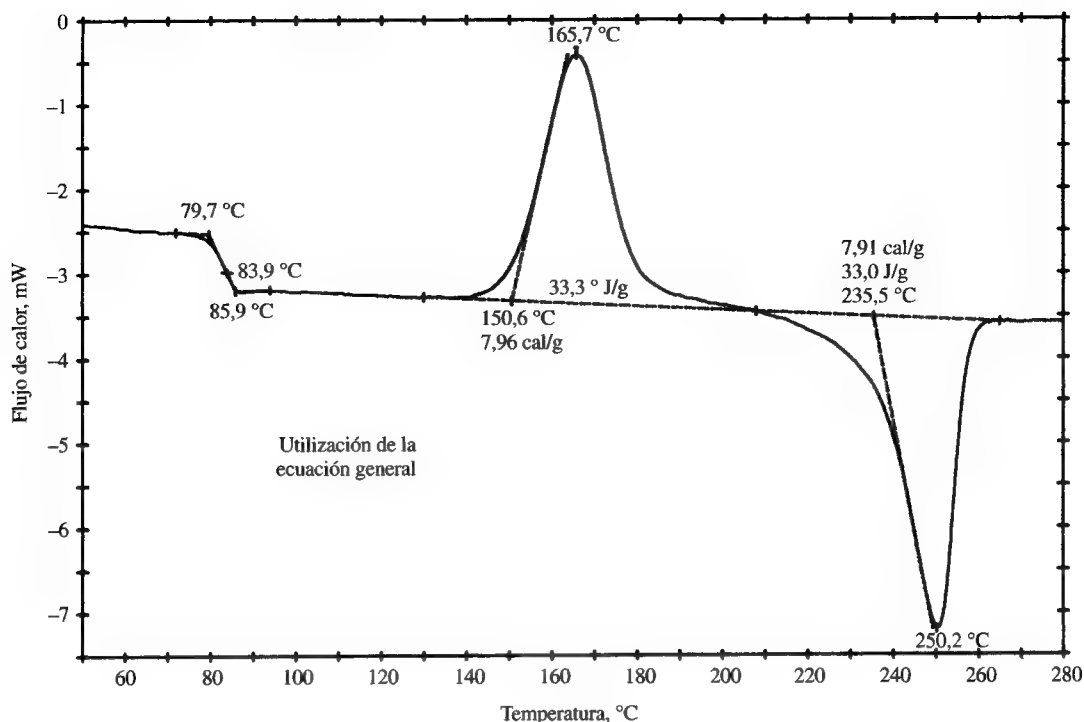


Figura 31-15. Gráfica de la calorimetría de barrido diferencial obtenida con un instrumento térmico que muestra las transiciones térmicas del terftalato de polietileno. (Cortesía de DuPont Instrument Systems, Wilmington, DE.)

referencia a través de un disco termoelectrónico de constantan calentado eléctricamente⁷. Los platillos pequeños de aluminio para la muestra y la referencia se colocan sobre plataformas elevadas formadas en el disco de constantan. El calor se transfiere a través de los discos hacia la muestra y la referencia a través de los dos platillos. La diferencia entre el flujo de calor hacia la muestra y la referencia se controla mediante unos termopares de superficie de Chromel/constantan formados por la unión entre la plataforma de constantan y los discos de Chromel® sujetos a la parte inferior de la plataforma. Se puede demostrar que la diferencia entre la cantidad de calor que fluye hacia los dos platillos es directamente proporcional a la diferencia en la salida en las dos uniones del termopar⁸. La temperatura de la muestra se estima por la unión de Chromel/alumel colocada debajo del disco de la muestra.

⁷ El constantan es una aleación con 60 por 100 de cobre y 40 por 100 de níquel. El Chromel es el nombre comercial para una serie de aleaciones que contienen cromo, níquel y algunas veces hierro.

⁸ R. A. Baxter, en *Thermal Analysis*, R. F. Schwenker y P. D. Garn, Eds., Vol. 1, págs. 68-70. New York: Academic Press, 1969.

31C-2. Aplicaciones

En la Figura 31-15 se muestra la curva DSC para una muestra amorfa de terftalato de polietileno. En esta gráfica la ordenada es la energía de entrada, en miliwatios. Obsérvese la similitud de esta curva y la gráfica de DTA mostrada en la Figura 31-7. Los dos picos iniciales en ambas figuras surgen de la formación de microcristales y de la fusión. Es también evidente en ambos casos una transición vítrea, pero en la curva DSC no se encuentra pico de oxidación debido a que el experimento se llevó a cabo en una atmósfera de nitrógeno.

Los experimentos calorimétricos de barrido diferencial se llevan a cabo normalmente en la modalidad de barrido de temperatura, pero ocasionalmente se encuentran experimentos isotérmicos. La Figura 31-16 ilustra la utilización de la DSC para seguir la cristalización isotérmica del polietileno. El área bajo el pico exotérmico en este experimento puede utilizarse para estimar el grado de cristalización que ha tenido lugar a esta temperatura. Obsérvese que a 124 °C se necesitan 24 minutos para desarrollar la máxima cristalinidad. Llevando a cabo experimentos similares a diferentes tempera-

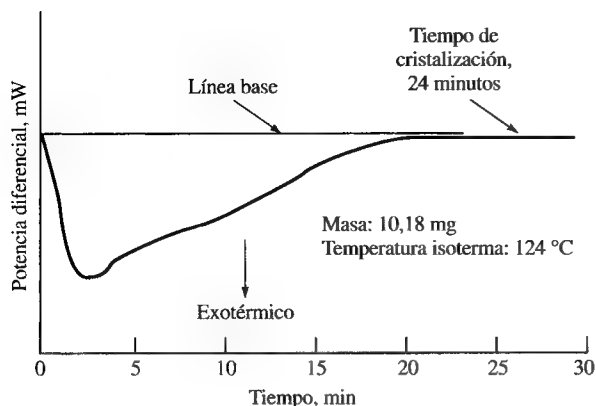


Figura 31-16. Curva de DSC de la cristalización isotérmica del polietileno.

turas es posible caracterizar completamente el comportamiento de este material en los procesos de cristalización.

Los métodos térmicos diferenciales han encontrado amplia utilización en la industria farmacéutica para valorar la pureza de las muestras de fármacos. Un ejemplo se muestra en la Figura 31-17, en el que las curvas DSC se utilizan para determinar la

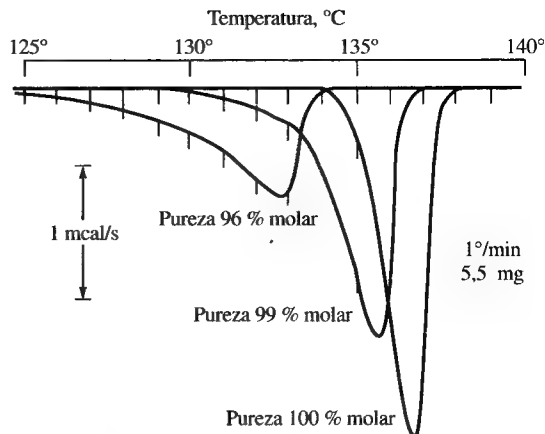


Figura 31-17. Estudio por calorimetría de barrido diferencial de muestras del principio activo fenacetina. (Reproducción autorizada de H. P. Vaughan y J. P. Elder, Amer. Lab., 1974, 6 (1), 58. Copyright de 1984 de International Scientific Communications, Inc.)

pureza de preparaciones de fenacetina. Generalmente, las curvas de este tipo proporcionan resultados de pureza con una incertidumbre relativa de ± 10 por 100.

31D. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 31-1.** Indicar qué cantidad se mide y cómo se llevan a cabo las medidas en cada una de las siguientes técnicas: (a) análisis termogravimétrico; (b) análisis térmico diferencial; (c) calorimetría de barrido diferencial; (d) calorimetría de barrido isotérmico diferencial.
- 31-2.** Se disolvió una muestra de 0,6025 g y se precipitaron los iones Ca^{2+} y Ba^{2+} presentes como $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y $\text{BaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Los oxalatos se calentaron entonces en un aparato termogravimétrico dando un residuo que pesaba 0,5713 g en el intervalo de 320 a 400 °C y 0,4673 g en el intervalo de 580 a 620 °C. Calcular el porcentaje de Ca y de Ba en la muestra.
- 31-3.** La siguiente tabla recoge algunos datos sobre tres cloruros de hierro(III)

Compuesto	Peso molecular	Punto de fusión (°C)
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	270	37
$\text{FeCl}_3 \cdot 5/2 \text{H}_2\text{O}$	207	56
FeCl_3	162	306

Dibujar la curva termogravimétrica esperada si una muestra de 25,0 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ se calienta de 0 a 400 °C.

- 31-4.** ¿Por qué las dos endotermas a baja temperatura de la Figura 31-12 coinciden mientras que los picos a elevada temperatura se desplazan uno respecto al otro?
- 31-5.** Debería ser posible caracterizar al menos parcialmente una muestra de aceite esquistoso utilizando las técnicas discutidas en este capítulo. Discutir brevemente dos técnicas que pudieran ser adecuadas para este objetivo. Dibujar las curvas térmicas típicas y discutir la información que podría obtenerse y los problemas que se podrían predecir.
- 31-6.** En los métodos térmicos de análisis, ¿por qué el termopar para la medida de la temperatura de la muestra rara vez está sumergido directamente en la muestra?
- 31-7.** Enumerar los tipos de cambios físicos que pueden dar lugar a picos exotérmicos y endotérmicos en DTA y DSC.
- 31-8.** Enumerar los tipos de cambios químicos que pueden dar lugar a picos exotérmicos y endotérmicos en DTA y DSC.
- 31-9.** ¿Por qué las aplicaciones de la termogravimetría son más limitadas que las de DSC y DTA?
- 31-10.** ¿Por qué la transición vítrea de un polímero no da ni un pico exotérmico ni endotérmico?
- 31-11.** Indicar la diferencia entre los instrumentos de DSC de potencia compensada y los de flujo de calor.



Capítulo 32

Métodos radioquímicos

La disponibilidad tanto de isótopos radiactivos naturales como artificiales ha hecho posible el desarrollo de métodos analíticos (métodos radioquímicos) que son a la vez sensibles y específicos¹. Estos procedimientos se caracterizan normalmente por una buena exactitud y una amplia aplicabilidad; además, algunos reducen o eliminan separaciones químicas que son necesarias en otros métodos analíticos.

Los métodos radioquímicos son de tres tipos según sea el origen de la radiactividad. En **análisis por activación**, la actividad es inducida en uno o más elementos de la muestra por irradiación con radiación o partículas adecuadas (normalmente neutrones térmicos de un reactor nuclear); se mide a continuación la radiactividad resultante. En la segunda categoría se encuentran los métodos en los que la radiactividad se introduce físicamente

en la muestra por adición de una cantidad medida de una especie radiactiva denominada **marcador radioquímico**. La clase más importante de métodos cuantitativos basada en este procedimiento es el método de **dilución isotópica**, en el que una cantidad pesada de analito marcado radiactivamente y que tiene una actividad conocida se añade a una cantidad medida de la muestra. Después de mezclar completamente para asegurar la homogeneidad, se aísla y purifica una fracción del analito; el análisis determina la actividad de esta fracción aislada. Además, los químicos orgánicos a menudo utilizan reactivos que han sido marcados con marcadores radiactivos con objeto de elucidar los mecanismos de reacción. La tercera clase de métodos implica medidas de radiactividad que tiene lugar de manera natural en una muestra. Ejemplos de este tipo de métodos son la medida de radón en el aire de una casa o de uranio en materiales de loza y cerámica.

¹ Para un tratamiento detallado de los métodos radioquímicos, véase G. Friedlander, J. W. Kennedy, E. S. Macias y J. M. Miller, *Nuclear and Radiochemistry*, 3.^a ed. New York: Wiley, 1981; *Treatise on Analytical Chemistry*, P. J. Elving, V. Krivan e I. M. Kolthoff, Eds., Parte I, Vol. 14. New York: Wiley, 1986; H. J. Arnikar, *Essentials of Nuclear Chemistry*, 2.^a ed. New York: Wiley, 1987; W. D. Ehmann y D. E. Vance, *Radiochemistry and Nuclear Methods of Analysis*. New York: Wiley, 1991.

32A. ISÓTOPOS RADIATIVOS

Todos los núcleos están constituidos por un conjunto de protones y de neutrones excepto uno, que

obviamente es el núcleo del hidrógeno, que consta de sólo un protón. Las propiedades químicas de un átomo están determinadas por su número atómico Z , que es el número de protones que contiene su núcleo. La suma del número de neutrones y de protones en un núcleo es el número másico A^2 . Los isótopos de los elementos son átomos que tienen el mismo número atómico pero diferente número másico. Esto es, los núcleos de los isótopos de un elemento contienen el mismo número de protones pero diferente número de neutrones.

Los *isótopos estables* son aquellos que nunca se han desintegrado espontáneamente. Los *isótopos radiactivos (radionucleidos)*, por el contrario, sí experimentan desintegración espontánea, la cual da lugar finalmente a isótopos estables. La *desintegración radiactiva* de los isótopos se produce con la emisión de radiación electromagnética en forma de rayos X o rayos gamma (rayos γ); con la formación de electrones, positrones y núcleos de helio; o por *fisión*, en la que un núcleo se rompe en núcleos más pequeños.

32A-1. Productos de desintegración radiactiva

La Tabla 32-1 enumera los tipos más importantes de radiación producidos en la desintegración radiactiva (desde el punto de vista químico). Cuatro de estos tipos —partículas alfa, partículas beta, fotones de rayos gamma y fotones de rayos X— se pueden detectar y contar con varios de los detectores descritos en el Apartado 12B-4. Así, la mayoría de los métodos radioquímicos de análisis se basan en el recuento de los impulsos de electricidad producidos cuando estas partículas de desintegración o los fotones chocan con un detector de radiación.

32A-2. Procesos de desintegración

Diversos tipos de procesos de desintegración radiactiva dan lugar a los productos citados en la Tabla 32-1.

² La composición nuclear de los isótopos del elemento X se indica por el símbolo ${}_Z^AX$ o, a veces, de una manera más simple como AX , donde A es el número de protones más el de neutrones (número másico), y Z es el número atómico o número de protones.

TABLA 32-1. Características de los productos usuales de la desintegración radiactiva

Producto	Símbolo	Carga	Número másico
Partículas alfa	α	+2	4
Partículas beta	β		
Negatrón	β^-	-1	1/1.840 (~0)
Positrón	β^+	+1	1/1.840 (~0)
Rayos gamma	γ	0	0
Rayos X	χ	0	0
Neutrón	n	0	1
Neutrino	ν	0	0

Desintegración alfa

La desintegración alfa es un proceso radiactivo que sucede normalmente en los isótopos más pesados. Los isótopos con número másico menor de 150 aproximadamente ($Z \approx 60$) raramente producen partículas alfa. La partícula alfa es un núcleo de helio que tiene una masa de 4 y una carga de +2. Un ejemplo de desintegración alfa se muestra mediante la ecuación



En este caso, el uranio-238 (${}^{238}\text{U}$) se convierte en torio-234 (${}^{234}\text{Th}$), nucleido *hijo* que tiene un número atómico que es dos unidades menor que el del *progenitor*.

Las partículas alfa de un proceso de desintegración concreto son monoenergéticas o están distribuidas en un intervalo relativamente pequeño de energías discretas. Por ejemplo, el proceso de desintegración mostrado en la Ecuación 32-1 tiene lugar por dos caminos distintos. El primero, que sucede en el 77 por 100 de las desintegraciones, produce partículas alfa con una energía de 4,196 MeV³. El segundo camino (23 por 100 de las desintegraciones) produce partículas alfa que tienen una energía de 4,149 MeV; esta reacción está acompañada por la liberación de un rayo gamma de 0,047 MeV.

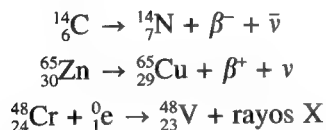
³ Las energías asociadas con las reacciones nucleares se expresan normalmente en millones de electrón voltios (MeV) o miles de electrón voltios (keV).

Las partículas alfa pierden progresivamente su energía debido a colisiones al atravesar la materia y finalmente se convierten en átomos de helio al capturar dos electrones de su entorno. Su masa y carga relativamente elevada hace que las partículas alfa sean muy efectivas en la producción de pares de iones en la materia que atraviesa; esta propiedad facilita su detección y medida. Debido a su elevada masa y carga, las partículas alfa tienen un bajo poder de penetración en la materia. La identidad de un isótopo que sea un emisor alfa puede establecerse midiendo la distancia (o intervalo) en el cual las partículas alfa emitidas producen pares de iones en un medio concreto (a menudo aire).

Las partículas alfa son relativamente ineficaces para la producción de isótopos artificiales debido a su bajo poder de penetración.

Desintegración beta

Se considera como una desintegración β cualquier reacción nuclear en la que el número atómico Z cambia pero el número másico A permanece constante. Existen tres tipos de desintegración β : *formación de un negatrón, formación de un positrón y captura electrónica*. Ejemplos de los tres procesos son:



En este caso, $\bar{\nu}$ y ν en las dos primeras ecuaciones representan un antineutrino y un neutrino, partículas que no tienen significado en química analítica. La tercera ecuación muestra un proceso de desintegración β denominada *captura de electrón*. En este caso, la captura de un electrón por el núcleo de ${}^{48}_{24}\text{Cr}$ produce ${}^{48}_{23}\text{V}$, pero este proceso deja uno de los orbitales atómicos del vanadio con un electrón menos (normalmente el 1s, u orbital K, caso en el que el proceso se denomina *captura K*). Cuando un electrón de uno de los orbitales externos llena el hueco libre en el proceso de captura, se produce la emisión de rayos X. Hay que destacar que la emisión de un fotón de rayos X *no es un proceso nuclear*, pero sí que lo es la captura de un electrón por el núcleo.

Se crean dos tipos de partículas β por desintegración radiactiva. Los negatrones (β^-) son electrones que se forman cuando uno de los neutrones se

transforma en un protón en el núcleo. Por el contrario, los positrones (β^+), que tienen la masa del electrón, se forman cuando el número de protones en el núcleo disminuye en una unidad. El positrón tiene una existencia transitoria y desaparece por reacción con un electrón para dar dos fotones de rayos gamma de 0,511 MeV.

En contraste con la emisión alfa, la desintegración beta se caracteriza por la producción de partículas con un espectro continuo de energías que van desde casi cero hasta un máximo que es característico de cada proceso de desintegración. La partícula beta no es ni mucho menos tan efectiva como la partícula alfa en la producción de pares de iones en la materia debido a su pequeña masa (alrededor de 1/7.000 la de una partícula alfa); al mismo tiempo, su poder de penetración es sustancialmente mayor. Las energías de las partículas beta se expresan frecuentemente como el espesor de una sustancia absorbente, habitualmente aluminio, necesario para parar la partícula.

Emisión de rayos gamma

Muchos procesos de emisión alfa y beta dejan un núcleo en estado excitado, que vuelve al estado fundamental en una o más etapas cuantificadas con la liberación de rayos gamma monoenergéticos. Es importante señalar que los rayos gamma no se distinguen de los rayos X de igual energía excepto por su fuente. Así, los rayos gamma se producen por relajaciones nucleares, mientras que los rayos X provienen de relajaciones electrónicas. El espectro de emisión de los rayos gamma es característico para cada núcleo y, por tanto, útil para identificar radioisótopos.

No es sorprendente que la radiación gamma sea muy penetrante. En su interacción con la materia, los rayos gamma pierden energía por tres mecanismos; el que predomine uno u otro depende de la energía del fotón de rayos gamma. Con radiación gamma de baja energía, predomina el *efecto fotoeléctrico*. En este caso, el fotón de rayos gamma desaparece después de la expulsión de un electrón de un orbital atómico del átomo diana (normalmente un orbital K). La energía del fotón se consume totalmente en superar la energía de enlace del electrón y en proporcionar energía cinética al electrón expulsado. El *efecto Compton* aparece con rayos gamma relativamente energéticos. En este caso, también es expulsado un electrón del átomo, pero éste sólo adquiere parte de la energía del fo-

tón. El fotón, ahora con menor energía, sale del electrón y puede dar lugar a nuevos efectos Compton o interacciones fotoeléctricas. Si el fotón de radiación gamma posee energía lo suficientemente elevada (al menos 1,02 MeV), puede tener lugar una *producción de pares*. En este caso, el fotón es totalmente absorbido creándose un positrón y un electrón en el campo que rodea al núcleo.

Emisión de rayos X

Muchos procesos producen la pérdida de electrones de los orbitales más internos de un átomo. Los rayos X se pueden formar a partir de transiciones *electrónicas* en las que los electrones más externos llenan los huecos vacantes creados por el proceso nuclear. Uno de los procesos es la captura de electrón, que se ha estudiado anteriormente. Un segundo proceso que puede producir rayos X es la *conversión interna*, un tipo de proceso nuclear que es alternativo de la emisión de rayos gamma. En este caso, una interacción electromagnética entre el núcleo excitado y un electrón extranuclear produce la expulsión de un electrón de un orbital cuya energía cinética es igual a la diferencia entre la energía de la transición nuclear y la energía de enlace del electrón (véase el Apartado 12A-3). La emisión de este llamado *electrón de conversión interna* deja un hueco en el orbital K, L u otro orbital más alto; los rayos X se emiten cuando el orbital se llena por una transición electrónica.

32A-3. Velocidades de desintegración radiactiva

La desintegración radiactiva es un proceso totalmente aleatorio. Por tanto, aunque no se puede hacer ninguna predicción respecto al tiempo de vida de un núcleo concreto, el comportamiento de un gran conjunto de núcleos similares se puede describir mediante una ecuación de cinética de primer orden

$$-\frac{dN}{dt} = \lambda N \quad (32-2)$$

donde N representa el número de núcleos radiactivos de un determinado tipo en la muestra a un tiempo t y λ es la *constante de desintegración* característica del radioisótopo. Reordenando esta ecuación e integrando en el intervalo entre $t = 0$ y $t = t$ (durante el cual el número de núcleos radiac-

tivos en la muestra disminuye de N_0 a N), se obtiene

$$\ln \frac{N}{N_0} = -\lambda t \quad (32-3)$$

o

$$N = N_0 e^{-\lambda t} \quad (32-4)$$

La *vida media*, $t_{1/2}$, de un isótopo radiactivo se define como el tiempo necesario para que se desintegre la mitad de los átomos radiactivos en una muestra; es decir, para que N sea igual a $N_0/2$. Sustituyendo $N_0/2$ por N en la Ecuación 32-3 se obtiene

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda} \approx \frac{0,693}{\lambda} \quad (32-5)$$

Las vidas medias de las especies radiactivas oscilan entre pocas fracciones de segundo a varios miles de millones de años.

La *actividad* A de un radionucleido se define como su velocidad de desintegración. Así, de la Ecuación 32-2, resulta

$$A = -\frac{dN}{dt} = \lambda N \quad (32-6)$$

La actividad se expresa en unidades de s^{-1} . El *becquerel* (Bq) corresponde a una desintegración por segundo. Esto es, $1 \text{ Bq} = 1 \text{ s}^{-1}$. Una antigua, pero todavía muy utilizada, unidad de actividad es el Curie (Ci), que fue originalmente definido como la actividad de 1 g de radio-226. Un curie es igual a $3,70 \times 10^{10} \text{ Bq}$. En radioquímica analítica, las actividades de los analitos normalmente oscilan entre un nanocurie o menos hasta unos pocos microcuries.

En el laboratorio, raramente se miden actividades absolutas, ya que las eficacias de los detectores no son generalmente del 100 por 100. En su lugar, se utiliza la *velocidad de recuento* R , donde $R = cA$. Sustituyendo esta relación en la Ecuación 32-6 se obtiene

$$R = cA = c\lambda N \quad (32-7)$$

En este caso, c es una constante denominada *coeficiente de detección*, que depende de la naturaleza del detector, de la eficacia del recuento de las desintegraciones y de la disposición geométrica

de la muestra y el detector. La ley de desintegración dada por la Ecuación 32-4 puede escribirse como

$$R = R_0 e^{-\lambda t} \quad (32-8)$$

EJEMPLO 32-1

En una determinada muestra, la velocidad de recuento fue de 453 cpm (cuentas por minuto) en un recuento inicial. La misma muestra presentó una velocidad de recuento de 285 cpm en un segundo experimento llevado a cabo 420 min más tarde. Suponiendo que todas las cuentas son el resultado de la desintegración de un único isótopo, ¿cuál es la vida media de ese isótopo?

Se puede utilizar la Ecuación 32-8 para calcular la constante de desintegración, λ .

$$285 \text{ cpm} = 453 \text{ cpm} e^{-\lambda(420 \text{ min})}$$

$$\ln\left(\frac{285 \text{ cpm}}{453 \text{ cpm}}\right) = -\lambda(420 \text{ min})$$

$$\lambda = 1,10 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$$

Se puede utilizar la Ecuación 32-5 para calcular la vida media

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda} = \frac{0,693}{1,10 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}} = 630 \text{ min}$$

32A-4. Estadística del recuento⁴

Tal como se verá en el Apartado 32B, la radiactividad se mide mediante un detector que produce un impulso de electricidad por cada átomo que se desintegra. La información cuantitativa sobre las velocidades de desintegración se obtiene por recuento de estos impulsos durante un período dado. La Tabla 32-2 muestra los datos de desintegración típicos obtenidos para cuentas sucesivas de un minuto de una fuente radiactiva. Se observa una variación considerable de los resultados debido a que el proceso de desintegración es aleatorio. Así, las cuentas por minuto oscilan entre un mínimo de 132 y un máximo de 187.

TABLA 32-2. Variaciones en las cuentas por minuto de una fuente radiactiva

Minutos	Cuentas	Minutos	Cuentas
1	180	7	168
2	187	8	170
3	166	9	173
4	173	10	132
5	170	11	154
6	164	12	167

Cuentas totales = 2.004.

Cuentas/min promedio = $\bar{x}$ = 167.

A pesar que el proceso de desintegración radiactiva es aleatorio, los datos no se distribuyen de acuerdo con la Ecuación a1-13 (Apéndice 1), especialmente para cuentas bajas, ya que los procesos de desintegración no siguen un comportamiento gaussiano. La razón por la que los datos de desintegración no tienen una distribución normal se debe al hecho de que la radiactividad consta de una serie de sucesos discretos que no pueden variar continuamente como lo pueden hacer los errores indeterminados para los que se aplica la distribución gaussiana. Además, no son posibles los recuentos negativos. Por tanto, los datos no se pueden distribuir simétricamente alrededor de la media.

Con objeto de describir exactamente el comportamiento radiactivo, es necesario suponer una *distribución de Poisson*, que viene dada por la ecuación

$$y = \frac{\mu^{x_i}}{x_i!} e^{-\mu} \quad (32-9)$$

En esta expresión, y es la frecuencia con la que sucede una cuenta dada x_i y μ es la media para un conjunto grande de datos de recuento⁵.

Los datos representados en la Figura 32-1 fueron obtenidos con la ayuda de la Ecuación 32-9. Estas curvas muestran la desviación $(x_i - \mu)$ de la cuenta promedio verdadera que debería esperarse

⁴ Para una discusión más completa, véase G. Friedlander, J. W. Kennedy, E. S. Macias y J. M. Miller, *Nuclear and Radiochemistry*, 3.ª ed., Capítulo 9. New York: Wiley, 1981.

⁵ Al derivar esta ecuación se supone que el período de recuento es corto con respecto a la vida media, por lo que no tiene lugar un cambio significativo en el número de átomos radiactivos. Otras limitaciones suponen un detector que responda únicamente a la desintegración de un solo isótopo y a una geometría de recuento invariable, para que el detector responda a una fracción constante de los procesos de desintegración que tienen lugar.

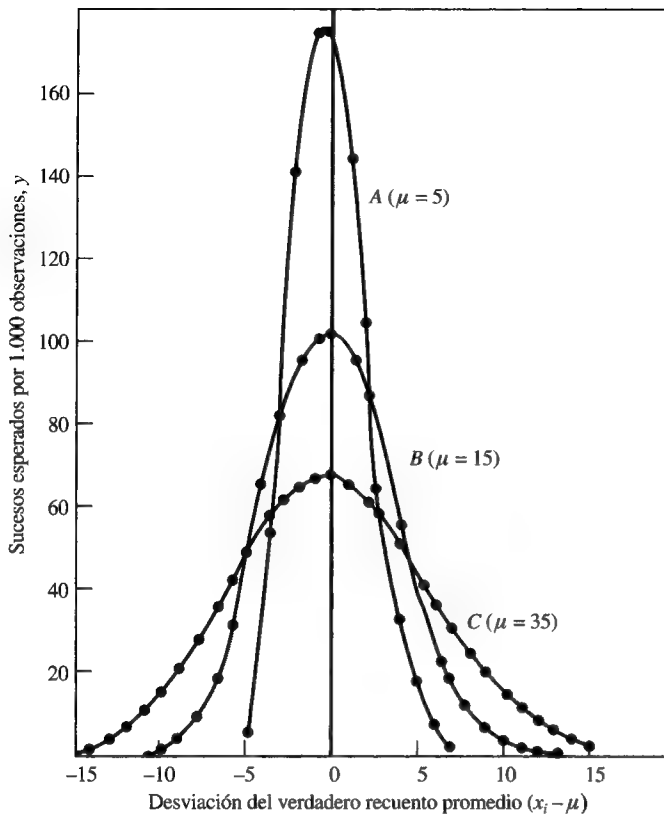


Figura 32-1. Desviación del verdadero recuento promedio ($x_i - \mu$).

si se hubieran hecho 1.000 observaciones replicadas en la misma muestra. La curva A muestra la distribución de una sustancia para la que la cuenta promedio verdadera μ para un período seleccionado es 5; las curvas B y C corresponden a muestras que tienen medias verdaderas de 15 y 35. Hay que señalar que las desviaciones *absolutas* aumentan a medida que se incrementa μ , pero las desviaciones *relativas* se hacen más pequeñas. Obsérvese también que para los dos números más pequeños de cuentas, la distribución es claramente asimétrica en torno al promedio; esta pérdida de simetría es una consecuencia de que es imposible una cuenta negativa, considerando que siempre existe una probabilidad finita de que una cuenta dada pueda exceder el promedio en varios órdenes.

Desviación estándar de los datos de recuento

En contraposición con la Ecuación a1-13 (Apéndice 1) para una distribución gaussiana, la Ecuación 32-9 no contiene el término correspondiente a la desviación estándar para una distribución de Poisson y, claro está, puede demostrarse que la an-

chura de las curvas como las de la Figura 32-1 depende sólo del número total de cuentas para un período dado cualquiera⁶. Esto es

$$\sigma_M = \sqrt{M} \quad (32-10)$$

donde M es el número de cuentas para un período dado cualquiera y σ_M es la desviación estándar para una distribución de Poisson.

La desviación estándar relativa σ_M/M , viene dada por

$$\frac{\sigma_M}{M} = \frac{\sqrt{M}}{M} = \frac{1}{\sqrt{M}} \quad (32-11)$$

Así, aunque la desviación estándar absoluta aumenta con el número de cuentas, la desviación estándar relativa disminuye.

La velocidad de recuento R es igual a M/t . Para obtener la desviación estándar en R , se aplica la Ecuación a1-28 (Apéndice 1), obteniéndose

⁶ Véase la nota 4 a pie de página.

$$\sigma_R^2 = \left(\frac{\partial R}{\partial M} \right)^2 \sigma_M^2 + \left(\frac{\partial R}{\partial t} \right)^2 \sigma_T^2$$

Generalmente, el tiempo puede medirse con una precisión suficientemente elevada como para que $\sigma_T^2 \sim 0$. La derivada parcial de R respecto a M es $1/t$. Así,

$$\sigma_R^2 = \frac{\sigma_M^2}{t^2}$$

Extrayendo la raíz cuadrada de esta ecuación y sustituyendo en la Ecuación 32-10 se obtiene

$$\sigma_R = \frac{\sqrt{M}}{t} = \frac{\sqrt{Rt}}{t} = \sqrt{\frac{R}{t}} \quad (32-12)$$

$$\frac{\sigma_R}{R} = \frac{\sqrt{R/t}}{R} = \sqrt{\frac{1}{Rt}} \quad (32-13)$$

EJEMPLO 32-2

Calcular las desviaciones estándar absoluta y relativa de la velocidad de recuento para (a) el primer dato de la Tabla 32-2 y (b) la media de todos los datos de la tabla.

(a) Aplicando la Ecuación 32-12 se obtiene

$$\sigma_R = \frac{\sqrt{M}}{t} = \frac{\sqrt{180}}{1 \text{ min}} = 13,4 \text{ cpm}$$

$$\frac{\sigma_R}{R} = \frac{13,4 \text{ cpm}}{180 \text{ cpm}} \times 100 \% = 7,4 \%$$

(b) Para el grupo entero,

$$\sigma_R = \frac{\sqrt{2.004}}{12} = 3,73 \text{ cpm} = 3,7 \text{ cpm}$$

$$\frac{\sigma_R}{R} = \frac{3,73}{167} \times 100 \% = 2,2 \%$$

de la desviación estándar verdadera ($s \rightarrow \sigma$), el límite de confianza LC viene dado por la Ecuación a1-18:

$$\text{LC para } \mu = \bar{x} \pm z\sigma$$

Para las velocidades de recuento, la ecuación se transforma en

$$\text{LC para } R = R \pm z\sigma_R \quad (32-14)$$

donde z depende del nivel de confianza deseado. Algunos valores de z se dan en la Tabla a1-3.

EJEMPLO 32-3

Calcular los límites para el 95 por 100 de confianza (a) para el primer dato de la Tabla 32-2 y (b) para la media de todos los datos de la tabla.

(a) En el Ejemplo 32-2, se obtuvo que $\sigma_R = 13,4$ cpm. La Tabla a1-3 (Apéndice 1) muestra que $z = 1,96$ para un nivel de confianza del 95 por 100. Así, para R

$$\begin{aligned} 95 \% \text{ LC} &= 180 \text{ cpm} \pm 1,96 \times 13,4 \text{ cpm} \\ &= 180 (\pm 26) \text{ cpm} \end{aligned}$$

(b) En este caso, σ_R se obtuvo que era 3,73 cpm y

$$\begin{aligned} 95 \% \text{ LC para } R &= 167 \text{ cpm} \pm 1,96 \times 3,73 \text{ cpm} \\ &= 167 (\pm 7) \text{ cpm} \end{aligned}$$

Por tanto, hay una probabilidad de 95 sobre 100 de que la velocidad verdadera para R (para un promedio de 12 minutos de recuento) se encuentre entre 160 y 174 cuentas/min. Para el recuento de la parte (a), 95 de cada 100 veces la velocidad verdadera se hallará entre 154 y 206 cuentas/min.

La Figura 32-2 muestra la relación entre las cuentas totales y los niveles tolerables de incertidumbre calculados según la Ecuación 32-14. Hay que tener en cuenta que el eje de abscisas es logarítmico; por tanto, una disminución de diez veces en la incertidumbre relativa requiere un aumento de cien veces en el número de cuentas.

Correcciones del fondo

Las cuentas registradas en un análisis radioquímico incluyen el aporte de las cuentas de las fuentes dis-

Intervalos de confianza para las cuentas

En el Apartado a1B-2 (Apéndice 1), el intervalo de confianza para una medida se definió como los límites alrededor de una cantidad medida para los que puede esperarse que se encuentre la media verdadera con una cierta probabilidad. Si la desviación estándar medida es una buena aproximación

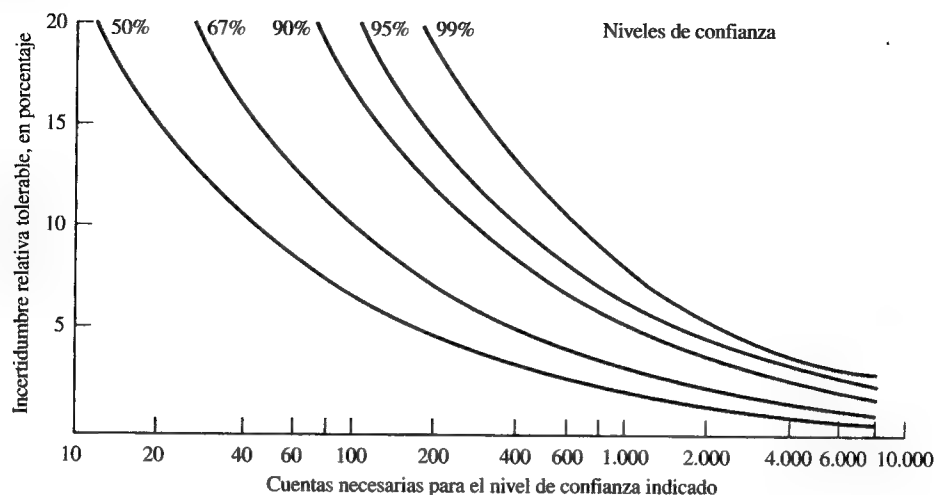


Figura 32-2. Incertidumbre relativa en el recuento.

tintas a la muestra. La actividad de fondo se puede deber a la existencia de pequeñas cantidades de isótopos de radón en la atmósfera, a los materiales utilizados en la construcción del laboratorio, a contaminación accidental dentro del laboratorio, a radiación cósmica y a la emisión de materiales radiactivos a la atmósfera de la Tierra. Con el objeto de obtener una valoración fiable, es necesario corregir las cuentas totales en función del ruido de fondo. El período de recuento requerido para establecer la corrección del fondo, frecuentemente, difiere del de la muestra; por tanto, es más conveniente utilizar velocidades de recuento. Entonces,

$$R_c = R_x - R_b \quad (32-15)$$

donde R_c es la velocidad de recuento corregida y R_x y R_b son las velocidades para la muestra y el fondo respectivamente. La desviación estándar de la velocidad de recuento corregida se puede obtener aplicando la Ecuación (1) de la Tabla a1-5 (Apéndice 1). Así,

$$\sigma_{R_c} = \sqrt{\sigma_{R_x}^2 + \sigma_{R_b}^2}$$

Sustituyendo la Ecuación 32-12 en esta ecuación se obtiene

$$\sigma_{R_c} = \sqrt{\frac{R_x}{t_x} + \frac{R_b}{t_b}} \quad (32-16)$$

EJEMPLO 32-4

Una muestra produce 1.800 cuentas en un período de 10 min. Se obtuvo un ruido de fondo de 80 cuentas en 4 min. Calcular la incertidumbre absoluta en la velocidad de recuento corregida para un nivel de confianza del 95 por 100.

$$R_x = \frac{1.800}{10} = 180 \text{ cpm}$$

$$R_b = \frac{80}{4} = 20 \text{ cpm}$$

Sustituyendo en la Ecuación 32-16 se obtiene

$$\sigma_{R_c} = \sqrt{\frac{180}{10} + \frac{80}{4}} = 6,2 \text{ cpm}$$

Para el nivel de confianza del 95%

$$\begin{aligned} \text{LC para } R_c &= (180 - 20) \pm 1,96 \times 6,2 \\ &= 160 \pm 12 \text{ cpm} \end{aligned}$$

En este caso, las probabilidades de que la cuenta verdadera esté entre 148 y 172 cpm son de 95 en 100.

32B. INSTRUMENTACIÓN

La radiación de fuentes radiactivas puede detectarse y medirse prácticamente de la misma manera que la radiación X (Apartados 12B-4 y 12B-5). Los detectores de gas, los contadores de centelleo y los detectores semiconductores son todos ellos sensibles a partículas alfa y beta, y a rayos gamma, ya que la absorción de estas partículas produce ionización o fotoelectrones, que pueden, a su vez, producir miles de pares de iones. Por tanto, se produce un impulso eléctrico detectable por cada partícula que alcanza el detector.

32B-1. Medida de partículas alfa

Con objeto de disminuir la autoabsorción, las muestras emisoras de partículas alfa se cuentan generalmente en forma de capas delgadas preparadas por electrodeposición o por destilación y condensación. A menudo, estas capas se sellan con unas ventanas delgadas y se cuentan en contadores proporcionales de flujo de gas sin ventanas o en cámaras de ionización. También se pueden colocar justo al lado de un detector de estado sólido, con frecuencia a vacío para el recuento. Cada vez se utilizan más los contadores de centelleo líquido (véase el próximo apartado) para el recuento de emisores de partículas alfa, dada la facilidad de preparación de la muestra y su mayor sensibilidad para la detección de partículas alfa.

Como se mencionó anteriormente, los espectros de partículas alfa tienen como característica, picos de energía discretos, que son útiles para la identificación. Los analizadores de altura de impulsos (Apartado 12B-5) permiten registrar los espectros de partículas alfa.

32B-2. Medida de partículas beta

Para las fuentes de partículas beta que tienen energías mayores que 0,2 MeV, se cuenta normalmente una capa uniforme de la muestra con un contador de tubo Geiger o proporcional de ventana delgada. Para emisores beta de baja energía, como carbono-14, azufre-35 y tritio, son preferibles los contadores de centelleo líquido (página 305). En este caso, la muestra se disuelve en una disolución del compuesto centelleante. Un vial que contiene la disolu-

ción se coloca entre dos tubos fotomultiplicadores situados en un contenedor protegido de la luz. La salida de los dos tubos alimenta un *contador de coincidencia*, un dispositivo electrónico que registra una cuenta sólo cuando los impulsos de los dos transductores llegan al mismo tiempo. El contador de coincidencia reduce el ruido de fondo de los detectores y de los amplificadores, debido a la poca probabilidad de que tal ruido afecte a los dos sistemas simultáneamente. Los contadores de centelleo líquido de radiación beta son probablemente los más utilizados en la mayoría de las determinaciones radioisotópicas, debido al amplio uso de esta técnica en los laboratorios clínicos. Los analizadores de altura de impulsos son menos útiles debido a que los espectros beta son normalmente continuos.

32B-3. Medida de la radiación gamma

La radiación gamma se detecta y se mide por los métodos descritos en los Apartados 12B-4 y 12B-5 para la radiación X. La interferencia de las partículas alfa y beta se elimina fácilmente filtrando la radiación con una pieza delgada de aluminio o Mylar⁷.

Los *espectrómetros de rayos gamma* son similares a los analizadores de altura de impulsos descritos en el Apartado 12B-5. Un montaje típico se muestra en la Figura 32-3. La Figura 32-4 muestra un espectro de rayos gamma de referencia característico obtenido con un analizador de 4.000 canales. En este caso, los picos característicos de los distintos elementos están superpuestos a un espectro continuo que aparece primeramente producido por efecto Compton.

La Figura 32-5 es un esquema de un contador de centelleo *tipo pozo* que se utiliza para el recuento de rayos gamma. La muestra está contenida en un vial pequeño y situada en un agujero cilíndrico o pozo en el cristal centelleante del contador.

32C. MÉTODOS DE ACTIVACIÓN NEUTRÓNICA

Los *métodos de activación* se basan en la medida de la radiactividad que ha sido inducida en las

⁷ Para un libro de texto sobre la aplicación de los espectrómetros gamma en radioquímica, véase G. Gilmore y J. D. Hemmingway, *Practical Gamma-Ray Spectrometry*. New York: Wiley, 1995.

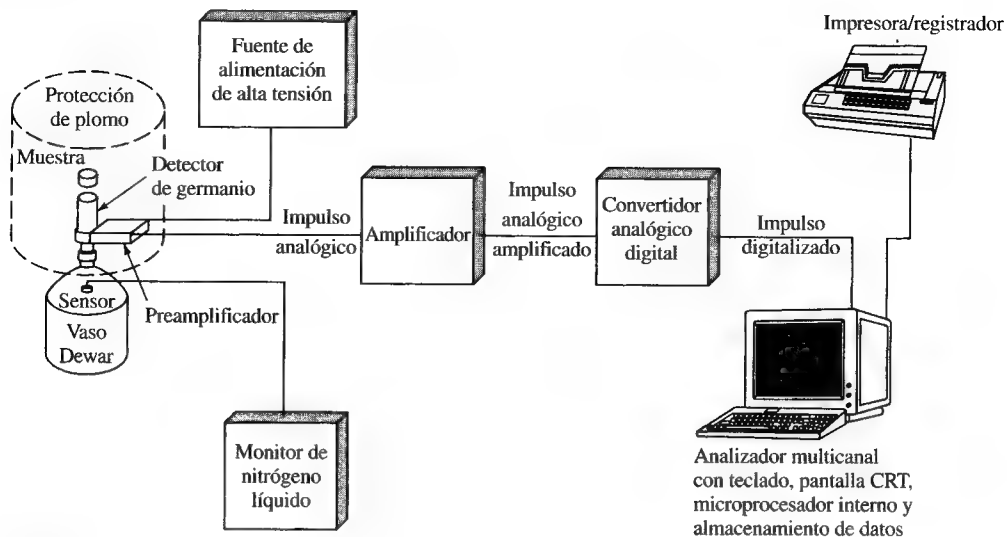


Figura 32-3. Esquema de un espectrómetro gamma equipado con un detector de germanio de elevada pureza. (Cortesía de Nuclear Data, Inc., Schamuburg, Illinois).

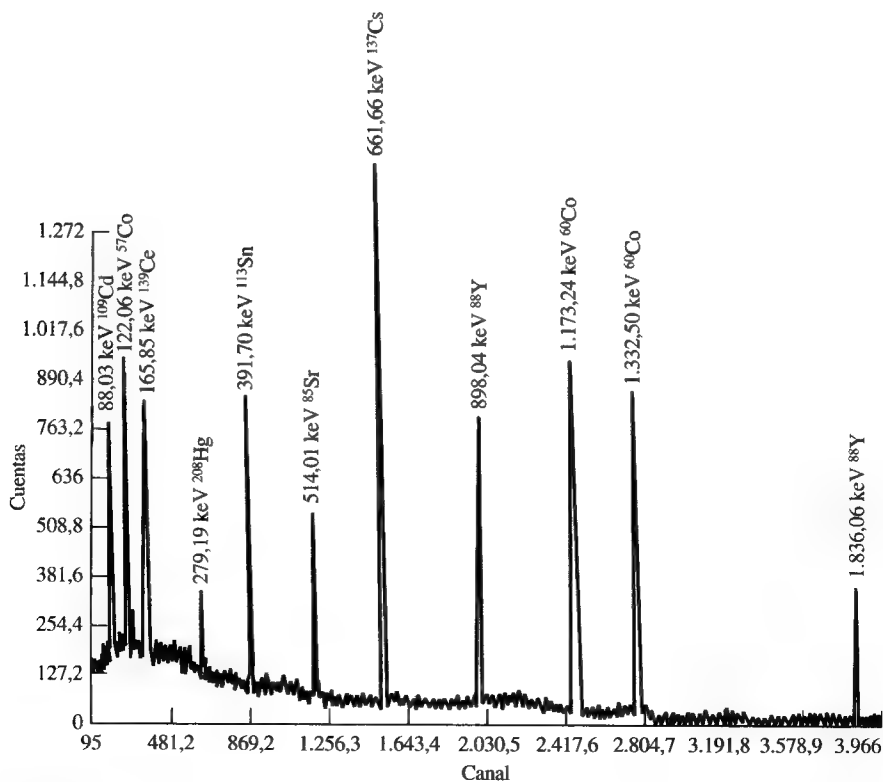


Figura 32-4. Espectro de rayos gamma de una fuente de referencia calibrada.

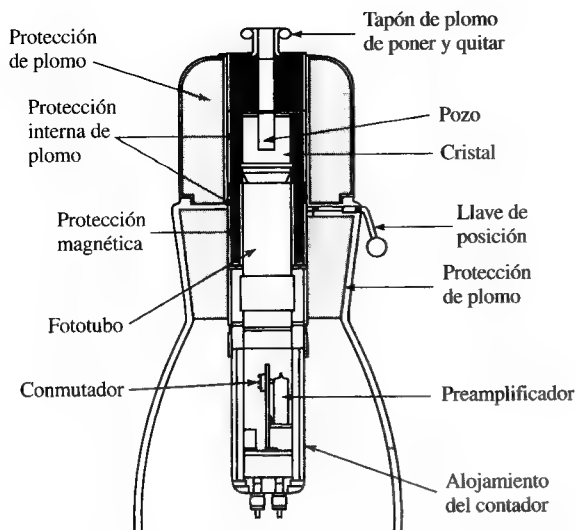


Figura 32-5. Contador de centelleo tipo pozo. (Cortesía de Texas Nuclear Division, Ramsey Engineering Co., Austin, TX. Anteriormente Nuclear-Chicago Corporation.)

muestras por irradiación con neutrones o partículas cargadas, como los iones hidrógeno, deuterio o helio⁸.

32C-1. Neutrones y fuentes de neutrones

En los métodos de activación neutrónica se utilizan tres fuentes de neutrones: *reactores*, *radionucleidos* y *aceleradores*. Los tres producen neutrones de alta energía (del orden de MeV), que atraviesan normalmente un material moderador que reduce su energía a pocas centésimas de electrón voltio. La pérdida de energía en el moderador se produce por *dispersión elástica*, en la que los neutrones salen fuera del núcleo del material moderador, transfiriendo parte de su energía cinética al núcleo con el que chocan. Finalmente, los núcleos llegan a un equilibrio térmico con su entorno. Los neutrones que tienen una energía de alrededor de 0,04 eV se llaman *neutrones térmicos* y el proceso de transformación de los neutrones de alta energía a condiciones térmicas se llama *termalización*. Los

moderadores más efectivos son sustancias de bajo peso molecular, como agua, óxido de deuterio y parafina.

La mayoría de los métodos de activación utilizan neutrones térmicos, que reaccionan eficazmente con la mayoría de elementos de interés analítico. Sin embargo, para alguno de los elementos más ligeros, como nitrógeno, oxígeno, flúor y silicio, los *neutrones rápidos* (que tienen una energía de 14 MeV aproximadamente) son más eficaces para inducir radiactividad. Estos neutrones de alta energía se producen normalmente en los aceleradores.

Reactores

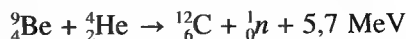
Los reactores nucleares son una fuente de abundantes neutrones térmicos y son, por tanto, ampliamente utilizados para análisis de activación. Un reactor típico utilizado en investigación tiene un flujo de neutrones de 10^{11} a 10^{14} $n\text{ cm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Esta elevada densidad de neutrones permite obtener límites de detección, que para muchos elementos, oscilan entre los 10^{-3} y $10\text{ }\mu\text{g}$.

Fuentes de neutrones radiactivas

Los isótopos radiactivos son fuentes de neutrones adecuadas y relativamente baratas para análisis de activación. Sus densidades de flujo de neutrones oscilan desde aproximadamente 10^5 a 10^{10} $n\text{ cm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Como consecuencia, los límites de detección no son generalmente tan buenos como los alcanzados cuando se utiliza un reactor como fuente.

Una fuente radiactiva de neutrones típica es un elemento transuránico que experimenta fisión espontánea produciendo neutrones. El ejemplo más común de este tipo de fuentes es el ^{252}Cf (californio), que tiene una vida media de 2,6 años. Alrededor del 3 por 100 de su desintegración implica una fisión espontánea, que produce 3,8 neutrones por fisión. Con este tipo de fuente se puede obtener una densidad de flujo térmico de alrededor de 3×10^7 $n\text{ cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ o superior.

Los neutrones también se pueden producir preparando una mezcla de un emisor alfa, como plutonio, americio o curio, con un elemento ligero, como berilio. Una fuente de este tipo que se utiliza normalmente sigue esta reacción



Para producir neutrones térmicos, se utiliza un contenedor de parafina como moderador.

⁸ Las monografías sobre métodos de activación neutrónica incluyen: *Nondestructive Activation Analysis*, S. Amiel, Ed. New York: Elsevier, 1981; S. J. Parry, *Activation Spectrometry in Chemical Analysis*. New York: Wiley, 1991; *Activation Analysis*, Vols. I y II, Z. B. Alfassi, Ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1989; W. D. Ehmann y D. E. Vance, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **1989**, 20(6), 405.

Aceleradores

Existen en el mercado pequeños aceleradores de partículas cargadas para la generación de neutrones. Un generador típico consta de una fuente de iones que libera iones deuterio en un área donde son acelerados por un potencial de unos 150 kV hacia un objetivo que contiene tritio absorbido sobre titanio o circonio. La reacción es

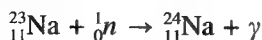


Los neutrones producidos de esta manera tienen energías de 14 MeV aproximadamente y se utilizan para la activación de elementos ligeros.

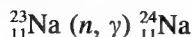
32C-2. Interacciones de los neutrones con la materia

Las características fundamentales de los neutrones se citan en la Tabla 32-1. Los neutrones libres no son estables y se desintegran con una vida media de alrededor de 10,3 min dando protones y electrones. Sin embargo, los neutrones libres generalmente no duran el tiempo suficiente como para desintegrarse de esta manera, debido a su gran tendencia a reaccionar con el entorno material. La elevada reactividad de los neutrones proviene de su carga cero, que les permite acercarse a los núcleos cargados sin interferencia de las fuerzas de Coulomb.

La *captura de neutrones* es la reacción más importante de los métodos de activación. En este caso, los neutrones son capturados por el núcleo del analito dando un isótopo con el mismo número atómico, pero con un número másico que es superior en una unidad. El nuevo nucleido está en un estado excitado muy elevado, debido a que adquiere la energía de 8 MeV aproximadamente por la unión del neutrón. Este exceso de energía es liberado por la *emisión rápida de rayos gamma* o por emisión de una o más partículas nucleares, como neutrones, protones o partículas alfa. Un ejemplo de la reacción que produce la emisión rápida de rayos gamma es



Normalmente, las ecuaciones de este tipo se escriben en la forma abreviada siguiente



Los rayos gamma rápidos formados por reacciones de captura son de interés analítico en casos especiales, pero generalmente es de mayor utilidad el radionucleido producido (${}^{24}\text{Na}$).

32C-3. Teoría de los métodos de activación

Cuando se expone a un flujo de neutrones, la velocidad de formación de un núcleo radiactivo de un isótopo sencillo puede expresarse por

$$\frac{dN^*}{dt} = N\phi\sigma$$

donde dN^*/dt es la velocidad de formación de partículas activas en neutrones por segundo (n/s), N es el número de átomos diana estables, ϕ es el flujo promedio en $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$, y σ es la sección transversal de captura en $\text{cm}^2/\text{átomo diana}$ ⁹. Esta última es una medida de la probabilidad de que los núcleos reaccionen con un neutrón a la energía de partícula utilizada. Las tablas de sección transversal de reacción para neutrones térmicos ofrecen un listado de valores para σ en *barns* (b), donde $1 \text{ b} = 10^{-24} \text{ cm}^2/\text{átomo diana}$.

Una vez formado, el núcleo radiactivo se desintegra a una velocidad de $-dN^*/dt$ dada por la Ecuación 32-2. Es decir,

$$\frac{-dN^*}{dt} = \lambda N^*$$

Así, durante la irradiación con un flujo uniforme de neutrones, la velocidad neta de formación de partículas activas es

$$\frac{dN^*}{dt} = N\phi\sigma - \lambda N^*$$

Cuando esta ecuación se integra desde un tiempo 0 a t , se obtiene

$$N^* = \frac{N\phi\sigma}{\lambda} [1 - \exp(-\lambda t)]$$

⁹ Aquí se utiliza el símbolo N^* para distinguir el número de núcleos radiactivos del número de núcleos estables N .

La sustitución de la Ecuación 32-5 en el término exponencial da

$$N^* = \frac{N\phi\sigma}{\lambda} \left[1 - \exp\left(-\frac{0,693t}{t_{1/2}}\right) \right]$$

Esta última ecuación se puede reordenar para dar el producto λN^* , que es la actividad A (véase la Ecuación 32-6). Por tanto,

$$\begin{aligned} A &= \lambda N^* = N\phi\sigma \left[1 - \exp\left(-\frac{0,693t}{t_{1/2}}\right) \right] \\ &= N\phi\sigma S \end{aligned} \quad (32-17)$$

donde S es el *factor de saturación*, que es igual a uno menos el término exponencial.

La ecuación anterior se puede escribir en términos de medidas experimentales de velocidad por sustitución en la Ecuación 32-7 para dar

$$R = N\phi\sigma c \left[1 - \exp\left(-\frac{0,693t}{t_{1/2}}\right) \right] = N\phi\sigma c S \quad (32-18)$$

La Figura 32-6 es una representación gráfica de esta relación a tres niveles de flujo de neutrones. El eje de abscisas es la relación entre el tiempo de irradiación y la vida media del isótopo ($t/t_{1/2}$). En cada caso, la velocidad de recuento tiende a un valor constante cuando las velocidades de formación

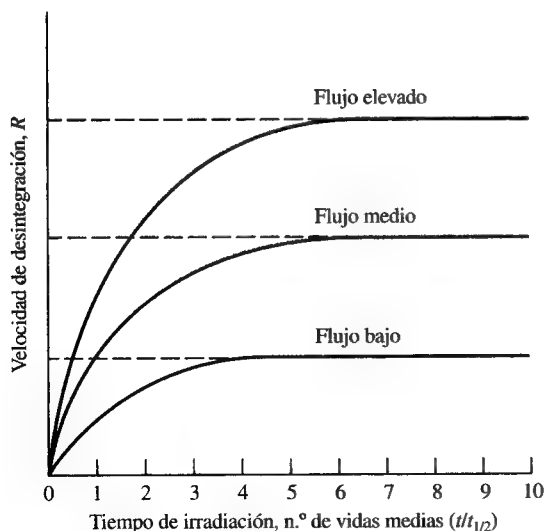


Figura 32-6. Efecto del flujo de neutrones y del tiempo en la actividad inducida en una muestra.

y de desintegración del isótopo se acercan una a la otra. Es evidente que la irradiación durante períodos superiores a cuatro o cinco veces el de la vida media de un isótopo no mejora notablemente la sensibilidad.

En muchos análisis, la irradiación de la muestra y la de los estándares se lleva a cabo durante un período de tiempo lo suficientemente largo como para alcanzar la saturación. En estas circunstancias, todos los términos del lado derecho de la Ecuación 32-18 menos N son constantes, y el número de radionucleidos de analito es directamente proporcional a la velocidad de recuento. Si el nucleido progenitor, o diana, existe en la naturaleza, el peso del analito w se puede obtener a partir de N multiplicado por el número de Avogadro, la abundancia natural del isótopo analito y el peso atómico. Como todos ellos son constantes, el peso del analito es directamente proporcional a la velocidad de recuento. Así, si se utilizan los subíndices x y s para indicar la muestra y el patrón respectivamente, se puede escribir

$$R_x = kw_x \quad (32-19)$$

$$R_s = kw_s \quad (32-20)$$

donde k es una constante de proporcionalidad. Dividiendo una ecuación por la otra y reordenando se obtiene una ecuación sencilla para calcular el peso del analito en una muestra desconocida:

$$w_x = \frac{R_x}{R_s} w_s \quad (32-21)$$

32C-4. Consideraciones experimentales en los métodos de activación

La Figura 32-7 es un diagrama de bloques que muestra el flujo de la muestra y de los patrones en los dos tipos más frecuentes de métodos de activación, *destrutivo* y *no destructivo*. En ambos procedimientos, la muestra y uno o más patrones son irradiados simultáneamente con neutrones (u otro tipo de radiación). Las muestras pueden ser sólidas, líquidas o gaseosas, aunque las dos primeras son más comunes. Los patrones se deben parecer a la muestra lo más posible tanto física como químicamente. Generalmente, las muestras y los patrones están en pequeños viales de polietileno; y en ocasiones también se utilizan viales de cuarzo sellados

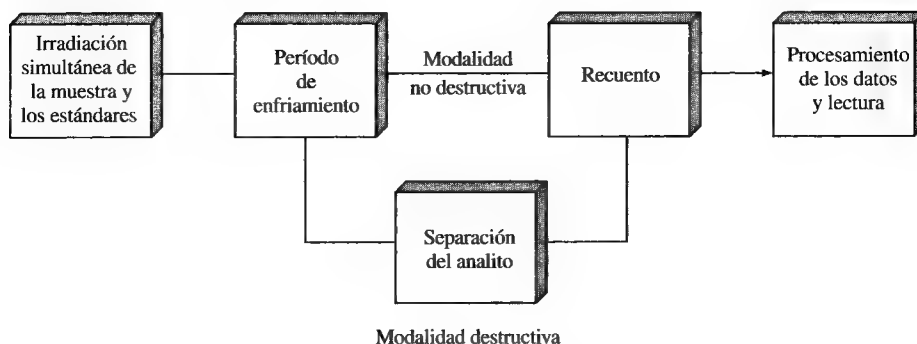


Figura 32-7. Diagrama de flujo para dos tipos de métodos de activación neutrónica.

con calor. Se ha de cuidar que las muestras y los patrones estén expuestos al mismo flujo de neutrones. El tiempo de irradiación depende de varios factores y a menudo se determina empíricamente. Normalmente, se utiliza un tiempo de exposición de aproximadamente tres a cinco veces la vida media del producto analito (véase Fig. 32-6). Los tiempos de irradiación generalmente varían entre varios minutos y varias horas.

Cuando la irradiación ha terminado, se deja que la muestra y los patrones se desintegren (o «enfrien») durante un período que oscila nuevamente entre unos pocos minutos y varias horas o más. Durante el proceso de enfriado, las interferencias de vida corta se desintegran de manera que no afectarán al resultado del análisis. Otra razón para dejar que una muestra irradiada se enfríe es que se reduce el riesgo para la salud asociado al recuento del material.

Métodos no destructivos

Tal como se muestra en la Figura 32-7, en el método no destructivo, la muestra y los estándares se cuentan directamente después del enfriamiento. En este caso, la selectividad la proporciona la capacidad de un espectrómetro de rayos gamma para discriminar entre la radiaciones de diferente energía. La Ecuación 32-21 se utiliza para calcular la cantidad de analito en la muestra desconocida.

EJEMPLO 32-5

Se realizó un análisis por activación neutrónica de dos alícuotas de 5,00 mL de agua de río. A una de ellas se añadió exactamente 1,00 mL de una disolución patrón que contenía 1,00 μg de Al^{3+} , y a la otra alícuota se le añadió 1,00 mL de agua desionizada.

Las dos muestras se irradiaron simultáneamente con un flujo de neutrones homogéneo. Después de un breve período de enfriamiento, se contó la radiación gamma de la desintegración del ^{28}Al . La disolución que fue diluida con agua dio una velocidad de recuento de 2.315 cpm, mientras que la disolución que contenía el Al^{3+} añadido dio una lectura de 4.197 cpm. Calcular el peso de Al en la muestra de 5,00 mL.

Se trata de un problema de adición estándar simple que puede resolverse sustituyendo en las Ecuaciones 32-19 y 32-20. Así,

$$2.315 \text{ cpm} = kw_x$$

$$4.197 \text{ cpm} = k(w_x + w_s) = k(w_x + 1,00)$$

Resolviendo estas dos ecuaciones se obtiene

$$w_x = 1,23 \mu\text{g}$$

Sin duda, el éxito del método no destructivo requiere que el espectrómetro sea capaz de aislar la señal de rayos gamma producida por el analito de las señales de los otros componentes. El que sea posible o no una adecuada resolución depende de la complejidad de la muestra, de la presencia o ausencia de elementos que producen rayos gamma de aproximadamente la misma energía que la del analito y del poder de resolución del espectrómetro. Las mejoras en el poder de resolución, que se han conseguido en las tres últimas décadas como consecuencia del desarrollo de los detectores de germanio de alta pureza (Apartado 12B-4), han abierto mucho el campo de aplicación del método no destructivo. La gran ventaja de esta modalidad es su simplicidad en términos de manipulación de

la muestra y el tiempo mínimo de operación requerido para completar el análisis. De hecho, los modernos equipos de activación están ampliamente automatizados.

Métodos destructivos

Como se muestra en el segundo procedimiento de la Figura 32-7, un método destructivo requiere que el analito se separe de los otros componentes de la muestra antes del recuento. En este caso, una cantidad conocida de la muestra irradiada se disuelve y el analito se separa por precipitación, extracción, intercambio iónico o cromatografía. El material aislado o una fracción conocida del mismo se cuenta entonces para conocer su actividad gamma (o beta). Los patrones son irradiados simultáneamente y tratados de igual manera, como en el método no destructivo. Se utiliza la Ecuación 32-21 para calcular los resultados del análisis.

32C-5. Aplicación de la activación neutrónica

Los métodos de activación neutrónica ofrecen varias ventajas, que incluyen la alta sensibilidad, la preparación mínima de la muestra y la fácil calibración. A menudo, estos procedimientos son no destructivos y por ello se aplican al análisis de objetos de arte, monedas, muestras forenses y objetos arqueológicos. La mayor desventaja de los métodos de activación es que necesitan un equipo grande y caro y requerimientos especiales para la manipulación y disposición de materiales radiactivos. Otra desventaja es el largo tiempo de análisis requerido cuando se utilizan radionucleidos de vida larga.

Campo de aplicación

La Figura 32-8 muestra que la activación neutrónica es potencialmente aplicable para la determinación de 69 elementos. Además, cuatro de los gases inertes forman isótopos activos con neutrones térmicos y por tanto también se pueden determinar. Finalmente, el oxígeno, el nitrógeno y el irio pueden ser activados con neutrones rápidos de un acelerador. La relación de los tipos de materiales a los que el método se ha aplicado es enorme e incluye metales, aleaciones, objetos arqueológicos, semiconductores, muestras biológicas, rocas, minerales y agua. La aceptación del análisis por activación en

los tribunales jurídicos ha dado lugar a un amplio uso en química forense. En este caso, su elevada sensibilidad y el ser un método no destructivo son particularmente útiles. La mayoría de las aplicaciones permiten la determinación de trazas de varios elementos.

Exactitud

Los principales errores que se obtienen en análisis por activación son debidos al autoapantallamiento, al flujo desigual de neutrones de la muestra y de los patrones, a las incertidumbres en los recuentos y a los errores en el recuento debido a la dispersión, absorción y a diferencias en la geometría entre la muestra y el patrón. Los errores debidos a estas causas generalmente se pueden reducir a menos de un 10 por 100 relativo; se suelen obtener incertidumbres entre el 1 y el 3 por 100.

Sensibilidad

La característica más importante del método de activación neutrónica es su notable sensibilidad para muchos elementos. En la Figura 32-8, por ejemplo, se observa que se puede detectar hasta $10^{-5} \mu\text{g}$ para diversos elementos. Hay que tener en cuenta también las amplias variaciones de sensibilidad entre los elementos; así, para la determinación del hierro se requieren alrededor de $50 \mu\text{g}$ y sólo $10^{-6} \mu\text{g}$ para el europio.

La sensibilidad de un análisis por activación puede estar limitada por la eficacia de la recuperación química, si es pertinente previo al radioensayo. Otros factores incluyen la sensibilidad del equipo de detección para la radiación emitida, el grado de disminución de la actividad de la muestra entre la irradiación y la valoración, el tiempo disponible para el recuento y la magnitud del recuento del fondo con respecto al de la muestra. Con objeto de disminuir la duración del período de recuento es deseable una velocidad elevada de desintegración. Sin embargo, concomitante con las velocidades de desintegración elevadas está la necesidad de establecer con exactitud el lapso de tiempo entre el cese de la irradiación y el inicio del recuento. Una complicación potencial adicional está asociada con las velocidades de recuento que sobrepasan el tiempo de resolución del sistema de detección; en ese caso, se debe introducir una corrección para tener en cuenta la diferencia entre el tiempo de recuento transcurrido (cronometrado) y el tiempo real.

[illegible]

Figura 32-8. Sensibilidad estimada de los métodos de activación neutrónica. Los números superiores corresponden a la sensibilidad β en microgramos, los números inferiores a sensibilidad γ en microgramos. En cada caso, las muestras fueron irradiadas durante 1 hora o menos con un flujo térmico de 1.8×10^{-12} neutrones/(cm²/s). (De V. P. Guinn y H. R. Lukens, Jr., en *Trace Analysis: Physical Methods*, G. H. Morrison, Ed., pág. 345. New York: Wiley, 1965).

32D. MÉTODOS DE DILUCIÓN ISOTÓPICA

Los métodos de dilución isotópica, que son anteriores a los de activación, todavía se aplican ampliamente a problemas en todas las ramas de la química. Éstos son los métodos más selectivos de que disponen los químicos. En la técnica de dilución isotópica, se utilizan tanto los isótopos estables como los radiactivos. Sin embargo, estos últimos son los más adecuados, debido a la facilidad con que se puede determinar la concentración del isótopo. Se estudiarán solamente los métodos que utilizan especies radiactivas.

32D-1. Fundamentos del procedimiento de dilución isotópica

Los métodos de dilución isotópica requieren la preparación de una cantidad de analito en una forma radiactiva. Una cantidad conocida de esta especie isotópicamente marcada se mezcla con la muestra a analizar. Después de un tratamiento que asegure la homogeneidad entre la especie activa y la no activa, una parte del analito se aísla químicamente en forma de un compuesto purificado. Si se cuenta una porción pesada de este producto, el grado de dilución del material activo se puede calcular y relacionar con la cantidad de sustancia no activa en la muestra original. Hay que destacar que no se requiere la recuperación cuantitativa de las especies. Así, a diferencia de las separaciones analíticas típicas, se pueden utilizar diversas etapas para asegurar un producto de elevada pureza para realizar el análisis. Esta independencia de la necesidad de aislamiento cuantitativo es lo que proporciona la elevada selectividad al método de dilución isotópica.

Para desarrollar una ecuación que relacione la actividad de la mezcla aislada y purificada del analito y el marcador radiactivo con la cantidad original de analito, se supone que W_i gramos del marcador radiactivo que tienen una velocidad de recuento de R_i cpm se añaden a una muestra que contiene W_x gramos de analito inactivo. El recuento para los gramos resultantes de la mezcla ($W_x + W_i$) será el mismo que para los W_i gramos del marcador radiactivo, o R_i . Si ahora se cuentan los W_m gramos de la mezcla aislada y purificada de las especies activa e inactiva, su velocidad de

recuento R_m será $W_m/(W_x + W_i)$ de R_i debido a la dilución. Por lo que se podrá escribir

$$R_m = R_i \left(\frac{W_m}{W_x + W_i} \right) \quad (32-22)$$

que reordenando

$$W_x = \frac{R_i}{R_m} W_m - W_i \quad (32-23)$$

Por tanto, el peso de las especies originalmente presentes se obtiene a partir de las cuatro cantidades medidas del lado derecho de la Ecuación 32-23.

EJEMPLO 32-6

A una muestra de hidrolizado de proteína, se añade 1,00 mg de triptófano, que está marcado con ^{14}C y presenta una velocidad de recuento de 584 cpm sobre el ruido de fondo. Después de que este compuesto marcado fue cuidadosamente mezclado con la muestra, la mezcla se pasó a través de una columna de intercambio iónico. Se recogió la fracción de eluyente que sólo contenía triptófano, y se tomó de ésta una muestra de 18,0 mg triptófano puro. El recuento de la muestra aislada fue de 204 cpm en el mismo contador. ¿Cuál era la cantidad de triptófano en la muestra original?

Sustituyendo en la Ecuación 32-23 da

$$W_x = \frac{584 \text{ cpm}}{204 \text{ cpm}} \times 18,0 \text{ mg} - 1,00 \text{ mg} = 50,5 \text{ mg}$$

32D-2. Aplicación del método de dilución isotópica

La técnica de dilución isotópica ha sido utilizada en la determinación de aproximadamente 30 elementos en distintas matrices¹⁰. Los procedimientos

¹⁰ Es interesante señalar que el fundamento de la dilución ha tenido también otras aplicaciones. Un ejemplo es su utilización en la estimación del tamaño de los bancos de salmones que van a desovar en los ríos costeros de Alaska. En este caso, una fracción pequeña de salmones es capturada, marcada mecánicamente y devuelta al río. Una segunda captura tiene lugar aproximadamente 10 millas más arriba, y se determina la fracción de salmones marcados. La población total de salmones se calcula fácilmente a partir de esta información y del número originariamente marcado. Naturalmente, debe suponerse que la población de salmones se mantiene homogénea durante el viaje entre las estaciones.

de dilución isotópica también se han utilizado ampliamente en la determinación de compuestos que tienen interés en química orgánica y bioquímica. Así, se han desarrollado métodos para la determinación de distintas sustancias como vitamina D, vitamina B₁₂, sacarosa, insulina, penicilina, diversos aminoácidos, corticosterona, distintos alcoholes y

tirosina. El análisis de dilución isotópica ha tenido una menor aplicación como consecuencia del desarrollo de los métodos de activación. Sin embargo, cabe esperar un uso continuado del procedimiento, debido a la relativa sencillez del equipo requerido. Además, el procedimiento es a menudo aplicable cuando los métodos de activación fallan.

32E. CUESTIONES Y PROBLEMAS

En todos estos problemas se debe suponer que los coeficientes de detección son iguales a la unidad. También se debe suponer que todas las cuentas y velocidades de recuento han sido corregidas para eliminar el ruido de fondo, a menos que se indiquen los valores de ruido de fondo específicos.

32-1. Identificar X en cada una de las siguientes reacciones nucleares:

- (a) ${}_{30}^{68}\text{Zn} + {}_0^1n \rightarrow {}_{28}^{65}\text{Ni} + \text{X}$
- (b) ${}_{15}^{30}\text{P} \rightarrow {}_{14}^{30}\text{Si} + \text{X}$
- (c) ${}_{82}^{214}\text{Pb} \rightarrow {}_{83}^{214}\text{Bi} + \text{X}$
- (d) ${}_{92}^{235}\text{U} + {}_0^1n \rightarrow 4({}_0^1n) + {}_{30}^{72}\text{Zn} + \text{X}$
- (e) ${}_{52}^{130}\text{Te} + {}_1^2\text{H} \rightarrow {}_{53}^{131}\text{I} + \text{X}$
- (f) ${}_{29}^{64}\text{Cu} + \text{X} \rightarrow {}_{28}^{64}\text{Ni}$

32-2. El potasio 42 es un emisor β con una vida media de 12,36 horas. Calcular la fracción de este isótopo que queda en una muestra tras (a) 1 hora, (b) 10 horas, (c) 20 horas, (d) 75 horas.

32-3. Calcular la fracción de los siguientes isótopos que queda después de 27 horas (las vidas medias se dan entre paréntesis):

- (a) Hierro-59 (44,51 días).
- (b) Titanio-45 (3,078 horas).
- (c) Calcio-47 (4,536 días).
- (d) Fósforo-33 (25,3 días).

32-4. Una muestra de PbSO₄ contiene 1 microcurie de Pb-200 ($t_{1/2} = 21,5$ horas). ¿Qué tiempo de almacenamiento es necesario para asegurar que su actividad sea inferior a 0,1 microcurie?

32-5. Determinar la desviación estándar y la desviación estándar relativa asociada con cuentas de (a) 100; (b) 750, (c) $7,00 \times 10^3$, (d) $2,00 \times 10^4$.

32-6. Determinar la incertidumbre absoluta y relativa asociada con una medida que implica 800 cuentas a

- (a) Un nivel de confianza del 50 por 100.
- (b) Un nivel de confianza del 90 por 100.
- (c) Un nivel de confianza del 99 por 100.

32-7. Para una determinada muestra, la velocidad de recuento total (muestra más ruido de fondo) fue 300 cpm, y este valor se obtuvo durante un período de recuento de 14,0 minutos. El ruido de fondo se contó durante 2,0 min y fue de 9 cpm. Calcular

- (a) La velocidad de recuento corregida R_c .
- (b) La desviación estándar asociada con la velocidad de recuento corregida σ_{R_c} .
- (c) El nivel de confianza del 90 por 100 asociado con la velocidad de recuento corregida.

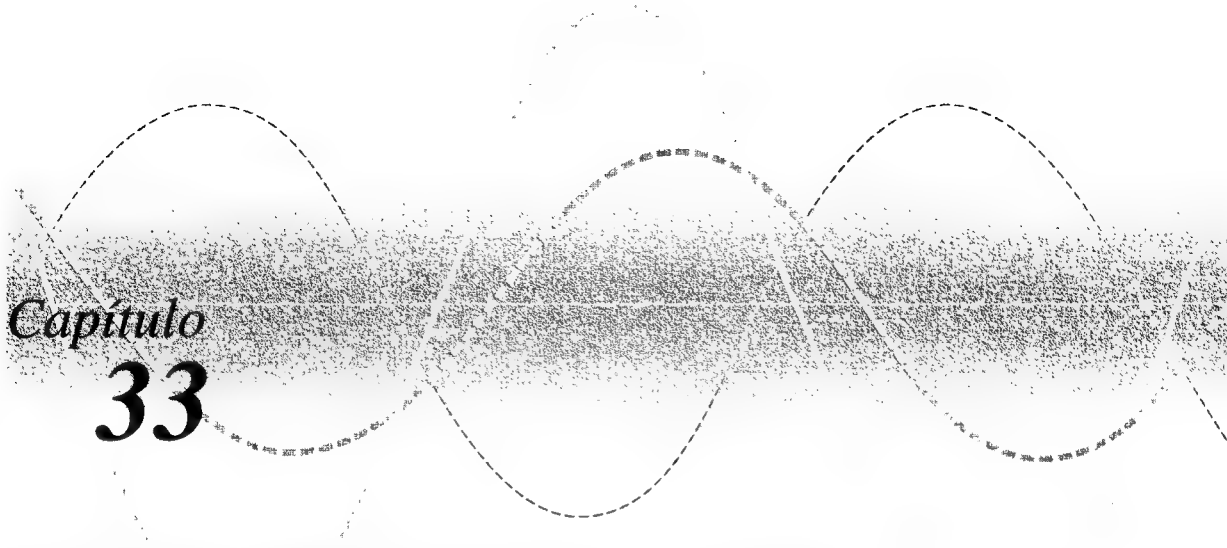
- 32-8.** La velocidad de recuento del ruido de fondo de un laboratorio se estimó que era aproximadamente 9 cpm cuando se midió durante un período de 3 min. Con objeto de mantener la desviación estándar relativa de la velocidad de recuento corregida inferior al 5 por 100; ($\sigma_{R_c}/R_c = 0,05$). ¿Qué número de cuentas debería recogerse, si la velocidad de recuento total es (a) 90 cpm y (b) 300 cpm?
- 32-9.** Una muestra de ^{64}Cu presenta 3.250 cpm. Después de 10,0 horas, la misma muestra presentó 2.230 cpm. Calcular la vida media del ^{64}Cu .
- 32-10.** La mitad de la actividad total de una determinada muestra se debe al ^{38}Cl ($t_{1/2} = 87,2$ min). La otra mitad de la actividad se debe al ^{35}S ($t_{1/2} = 37,5$ días). Debe medirse la emisión beta del ^{35}S , porque este nucleido no emite fotones gamma. Por tanto, es deseable esperar hasta que la actividad del ^{38}Cl haya descendido a un nivel despreciable. ¿Cuánto tiempo debe transcurrir antes de que la actividad del ^{38}Cl haya disminuido a sólo el 0,1 por 100 de la actividad debida al ^{35}S ?
- 32-11.** Demostrar que la desviación estándar relativa de la velocidad de recuento σ_R/R es simplemente $M^{-1/2}$, donde M es el número de cuentas.
- 32-12.** Se estudia un cristal de fluoruro de potasio por NAA. La tabla siguiente resume el comportamiento de todos los isótopos naturales encontrados.

Abundancia natural			
100 %	$^{19}\text{F}(n, \gamma)^{20}\text{F}$	$t_{1/2} = 11 \text{ s}$	$^{20}_{10}\text{Ne} + \beta^- + \bar{\nu}$
93 %	$^{39}\text{K}(n, \gamma)^{40}\text{K}$		
0,01 %	$^{40}\text{K}(n, \gamma)^{41}\text{K}$		
7 %	$^{41}\text{K}(n, \gamma)^{42}\text{K}$	$t_{1/2} = 12,4 \text{ h}$	$^{42}_{20}\text{Ca} + \beta^- + \bar{\nu}$

El ^{19}F , ^{20}Ne , ^{39}K , ^{41}K y ^{42}Ca son estables y se puede suponer que también lo es el ^{40}K , porque su vida media es de $1,3 \times 10^9$ años. ¿Qué tipo de irradiación y de secuencia de detección debería utilizarse, si se quiere realizar un análisis de (a) flúor y (b) potasio?

- 32-13.** En relación al Problema 32-12, calcular la actividad debida al ^{20}F y al ^{42}K en una muestra de 58 mg (1,0 milimoles) de fluoruro de potasio puro que ha sido irradiada durante 60 s. Las secciones transversales de los neutrones térmicos para el ^{19}F y ^{41}K son $0,0090 \times 10^{-24} \text{ cm}^2/\text{átomo diana}$ y $1,1 \times 10^{-24} \text{ cm}^2/\text{átomo diana}$, respectivamente. Se supone un flujo de $1,0 \times 10^{13}$ neutrones/($\text{cm}^2 \text{ s}$).
- 32-14.** ¿En qué condiciones se puede no tener en cuenta el segundo término de la Ecuación 32-23?
- 32-15.** Se inyectaron en el torrente sanguíneo de un perro 2,00 mL de una solución que contiene 0,120 microcurie por mililitro de tritio. Después de esperar un tiempo para la homogeneización, se observó que una muestra de 1,00 mL de la sangre tenía una velocidad de recuento de 15,8 cuentas por segundo. Calcular el volumen de sangre del animal.
- 32-16.** Se determinó la penicilina de una muestra por adición de 0,981 mg de un compuesto marcado con ^{14}C que tiene una actividad específica de $5,42 \times 10^3 \text{ cpm/mg}$. Después del equilibrado, se aislaron 0,406 mg de penicilina cristalina pura. Este material tuvo una actividad neta de 343 cpm. Calcular los miligramos de penicilina de la muestra.

- 32-17.** En un experimento de dilución isotópica, se determinó el contenido de cloruro de una muestra por adición de 5,0 mg de cloruro de sodio que contenía ^{38}Cl ($t_{1/2} = 37,3$ min). La actividad específica del NaCl añadido fue $4,0 \times 10^4$ cps/mg. ¿Cuál es la cantidad total de cloruro presente en la muestra original, si se aislaron 400 mg de AgCl puro y éste presentó una velocidad de recuento de 35 cps sobre el ruido de fondo 148 min después de la adición del marcador?
- 32-18.** Se hidrolizó una muestra de 10,0 g de proteína. Se adicionó al hidrolizado 30 mg de treonina marcada con ^{14}C , cuya actividad específica era 1.000 cpm/mg. Después de mezclar, se aislaron 60,0 mg de treonina pura que presentaron una actividad específica de 20 cpm/mg.
- (a) ¿Qué porcentaje de esta proteína es de treonina?
- (b) Si se hubiera utilizado ^{11}C ($t_{1/2} = 20,3$ min) en vez de ^{14}C , ¿cómo cambiaría la respuesta?
- Suponer que todos los valores numéricos son iguales y que el tiempo transcurrido entre las dos medidas de actividad específica fue de 32 min.
- 32-19.** Se determinó estreptomicina en 500 g de un caldo por adición de 1,34 mg del antibiótico puro que contenía ^{14}C ; la actividad específica de este preparado fue 223 cpm/mg para un recuento de 30 min. De la mezcla, se aislaron 0,112 mg de estreptomicina purificada, que produjo un recuento de 654 cuentas en 60,0 min. Calcular la concentración en partes por millón de estreptomicina en la muestra.
- 32-20.** Demostrar, mediante un cálculo, que la energía cinética promedio de una población de neutrones térmicos es aproximadamente de 0,04 eV.
- 32-21.** El 100 por 100 del manganeso presente en la naturaleza es ^{55}Mn . Este nucleido tiene una sección transversal de captura de neutrones térmicos de $13,3 \times 10^{-24} \text{ cm}^2$. El producto de la captura neutrónica es ^{56}Mn , que es un emisor beta y gamma con una vida media de 2,50 horas. En la obtención de la Figura 32-8, se supuso que la muestra se irradiaba durante una hora a un flujo de $1,8 \times 10^{12}$ neutrones/($\text{cm}^2 \text{ s}$) y que se detectaban 10 cpm sobre el ruido de fondo.
- (a) Calcular la masa mínima de manganeso que se podría detectar.
- (b) Explicar por qué el valor calculado es inferior al valor tabulado.



Capítulo 33

Métodos automatizados de análisis

Uno de los principales progresos de la Química analítica, durante las tres últimas décadas, ha sido la aparición en el mercado de sistemas automáticos para análisis, que proporcionan datos analíticos con la mínima intervención del operador. Inicialmente estos sistemas se diseñaron para solucionar las necesidades de los laboratorios clínicos, en los que hay que determinar, de forma rutinaria, unas treinta especies o más, con fines diagnósticos y preventivos. Como anualmente se realizan cientos de millones de análisis clínicos, parece lógico que su coste se mantenga dentro de un nivel razonable. Estas dos consideraciones motivaron el desarrollo de los primeros sistemas analíticos automáticos. Sin embargo, hoy día estos instrumentos se utilizan en áreas tan distintas como el control de procesos industriales, o las determinaciones rutinarias de distintas sustancias en el aire, agua, suelos, productos agrícolas y farmacéuticos¹.

33A. VISIÓN GENERAL DE LOS EQUIPOS AUTOMÁTICOS E INSTRUMENTACIÓN

Para comenzar, hay que señalar que la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada recomienda que se distinga entre *sistemas automáticos* y *automatizados*. Según la terminología de la IUPAC, un dispositivo automático es aquel que no modifica su funcionamiento como consecuencia de una señal de realimentación procedente de un detector analítico. Por ejemplo, un valorador automático ácido/base va añadiendo reactivo a una disolución, y a la vez registra el pH en función del volumen de reactivo. Por el contrario, un instrumento automatizado incorpora uno o varios sistemas de realimentación que controla el curso del análisis. Así, algunos valoradores automatizados van comparando el potencial de un electrodo de vidrio con su potencial teórico en el punto de equivalencia, y esta diferencia se utiliza para controlar la velocidad de adición de ácido o de base. Aunque esta distinción entre automático y automatizado pudiera ser útil, la mayoría de los autores no la siguen y tampoco se va a seguir en este texto.

¹ Para monografías sobre métodos automáticos, véase J. K. Foreman y P. B. Stockwell, *Automatic Chemical Analysis*. New York: Wiley, 1975; M. Valcárcel y M. D. Luque de Castro, *Automatic Methods of Analysis*. New York: Elsevier, 1988; V. Cerda y G. Ramis, *An Introduction to Laboratory Automation*. New York: Wiley, 1990.

33A-1. Ventajas y limitaciones de los análisis automáticos

En el contexto apropiado, los instrumentos automatizados ofrecen una importante ventaja económica al ahorrar costes laborales, pero para llegar a obtenerla se requiere que el volumen de trabajo del instrumento sea lo suficientemente grande como para compensar la inversión inicial de capital, que suele ser muy elevada, y también el gran esfuerzo que normalmente hay que realizar para que el sistema automático trabaje a pleno rendimiento. En los laboratorios que diariamente realizan un elevado número de análisis de rutina, mediante la automatización, se puede lograr un ahorro enorme. Respecto al ahorro de costes laborales, debe señalarse que para trabajar con la mayoría de los instrumentos automatizados se requiere personal menos cualificado y, por tanto, menos costoso, pero por otra parte, se pueden necesitar supervisores mucho más preparados.

La segunda ventaja importante de los instrumentos automatizados es su velocidad, que suele ser significativamente mayor que la de los dispositivos manuales. De hecho esta velocidad posibilita el control continuo de la composición de los productos mientras se van fabricando y, a su vez, esta información permite modificar las condiciones para mejorar la calidad o el rendimiento. El control continuo también es muy útil en medicina, ya que los resultados analíticos pueden usarse para establecer las condiciones normales de los pacientes y su respuesta a la terapia.

La tercera ventaja de la automatización es que con un buen analizador se pueden conseguir resultados, durante largos períodos de tiempo, más reproducibles que los que obtendría un operador utilizando un instrumento manual. Este aumento de la precisión de un dispositivo automatizado se considera que se debe a dos razones. Primero, las máquinas no se fatigan, lo que ya se ha demostrado que afecta de manera adversa a los resultados cuando se obtienen de forma manual, especialmente al final de la jornada laboral. Un factor que contribuye de manera muy importante a la precisión, es la elevada reproducibilidad de las medidas de los tiempos en las sucesivas operaciones de los instrumentos automatizados, una reproducibilidad que raramente se puede lograr con los métodos manuales. Por ejemplo, los analizadores automáticos permiten usar reacciones colorimétricas sin alcanzar el punto final, o las que dan lugar a productos cuya estabilidad no sea apta para medidas manuales. Asi-

mismo, las técnicas de separación como diálisis o extracción con disolventes, en las que la recuperación del analito es incompleta, siguen siendo aplicables si se utilizan sistemas automatizados. En ambos casos, la gran reproducibilidad de la medida del tiempo en la secuencia de las operaciones, garantiza que las muestras y los patrones se procesen exactamente igual y exactamente en el mismo período de tiempo.

33A-2. Operaciones unitarias en análisis químico

Todos los métodos analíticos se pueden dividir en una serie de ocho etapas, u operaciones unitarias, cada una de las cuales se puede automatizar. En la Tabla 33-1 se enumeran estas etapas ordenadas como se realizan en un análisis típico. A veces se puede prescindir de algunas, pero cualquier análisis siempre se compone de varias. En un método totalmente automático, todas estas operaciones unitarias se llevan a cabo sin intervención humana. Así, en un instrumento totalmente automático se introduce una muestra en el equipo, sin cuantificar y sin tratamiento previo, y al final se obtiene un resultado analítico en forma impresa o gráfica. En los laboratorios clínicos estos instrumentos son habituales pero en los laboratorios industriales o universitarios son menos frecuentes, ya que no hay ningún instrumento completamente automático que pueda adaptarse a la gran variedad de muestras, con distinta composición o diversas matrices, que hay en estos laboratorios.

33A-3. Tipos de sistemas analíticos automáticos

Los sistemas analíticos automáticos son de dos tipos: analizadores discontinuos y analizadores de flujo continuo; pudiéndose encontrar, a veces, una combinación de ambos. En un instrumento discontinuo, cada una de las muestras se mantiene como una entidad independiente, colocándose en recipientes separados durante las distintas operaciones unitarias indicadas en la Tabla 33-1. Por el contrario, en los sistemas de flujo continuo la muestra se va transportando desde el punto de inyección, o introducción, hasta el detector y de aquí al desecho; la muestra forma parte de la corriente en la que va fluyendo y en ella van transcurriendo las diferentes

TABLA 33-1. Operaciones unitarias en un análisis químico

Operación	Ejemplos característicos	Tipo característico de automatización*
1. Preparación de la muestra	Trituración, homogeneización, secado	D
2. Definición de la muestra	Determinación del peso o volumen de muestra	D
3. Disolución de la muestra	Tratamiento con disolventes y dilución Calentamiento, calcinación, fusión	C, D D
4. Separación	Precipitación y filtración Extracción, diálisis y cromatografiado	D C, D
5. Medida	Determinación de absorbancia, intensidad de emisión, potencial, intensidad de corriente y conductividad Valoración y pesada	C, D D
6. Calibración	Análisis de los patrones	C, D
7. Tratamiento de datos	Calcular el resultado, analizando la exactitud y precisión de los datos	C, D
8. Presentación de datos	Imprimir los resultados numéricos, representar gráficamente los datos	C, D

* D = discontinuo; C = flujo continuo.

operaciones unitarias. Ambos instrumentos, discontinuos y continuos, suelen controlarse mediante un ordenador.

Como los instrumentos discontinuos se basan en el uso de recipientes individuales, se elimina totalmente la contaminación entre muestras. Sin embargo, en los sistemas continuos las interacciones entre las muestras siempre dan problemas, especialmente al aumentar la velocidad de muestreo. En este caso hay que tomar precauciones especiales para minimizar la contaminación de las muestras.

Los analizadores de flujo continuo modernos, en general son mecánicamente más sencillos y más baratos que sus equivalentes discontinuos. Generalmente, en muchos sistemas continuos, las únicas partes móviles son las bombas peristálticas y las válvulas interruptoras, siendo estos componentes baratos y fiables. Por el contrario, en los sistemas discretos hay, a menudo, una serie de elementos móviles tales como jeringas, válvulas y dispositivos mecánicos para transportar las muestras o los recipientes de reactivos de una parte a otra del sistema. En los sistemas discontinuos más sofisticados, las diferentes operaciones unitarias son realizadas por unos robots, controlados por ordenador, y, que dada su versatilidad, son capaces de hacerlo de forma muy similar a la de un operador humano.

Como se indica en la tercera columna de la Tabla 33-1, algunas operaciones unitarias no son factibles en los sistemas de flujo continuo, puesto que estos sistemas sólo pueden manipular muestras líquidas. Así pues, cuando hay que analizar sólidos o cuando hay que triturar, pesar, calcinar, fundir o filtrar, la automatización sólo es posible con sistemas discontinuos.

En este capítulo se estudia primero el *análisis por inyección en flujo* (FIA), un reciente e importante método continuo. Posteriormente se describen distintos tipos de sistemas automáticos discontinuos, algunos de los cuales utilizan robots.

33B. ANÁLISIS POR INYECCIÓN EN FLUJO

Los métodos de inyección en flujo, en su forma actual, fueron descritos por primera vez a mediados de los años setenta por Ruzicka y Hansen en Dinamarca y Stewart y colaboradores en Estados Unidos². Los métodos de inyección en flujo son una

² K. K. Stewart, G. R. Beecher y P. E. Hare, *Anal. Biochem.*, **1976**, *70*, 167; J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **1975**, *78*, 145.

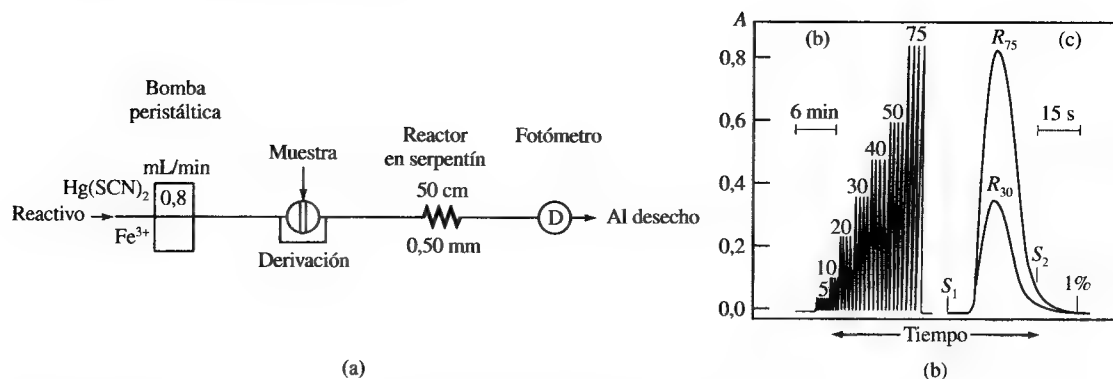


Figura 33-1. Determinación de cloruro por inyección en flujo: (a) esquema del sistema de flujo; (b) registro de una serie de patrones por cuadruplicado que contienen de 5 a 75 ppm de ion cloruro; (c) barrido rápido de dos de los patrones para demostrar la poca contaminación entre muestras del analito desde una serie a otra (menos del 1 por 100). Obsérvese que el punto marcado con un 1 por 100 corresponde al punto donde empezaría la respuesta de una muestra inyectada en un tiempo S_2 . (De J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Flow Injection Methods*, 2.^a ed., pág. 16. New York: Wiley, 1988. Con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

consecuencia de los métodos de flujo segmentado, muy utilizados en los laboratorios clínicos entre los años sesenta y setenta, para la determinación rutinaria y automática de distintas especies en sangre y orina, para diagnóstico médico. En los sistemas de flujo segmentado, que únicamente los fabricaba una compañía en EE.UU., las muestras eran transportadas a través del sistema hasta el detector por medio de una disolución acuosa, que contenía una serie de burbujas de aire muy próximas entre sí. La misión de estas burbujas de aire era evitar la dispersión excesiva de la muestra, promover el mezclado turbulento entre muestras y reactivos y limpiar las paredes del conducto para evitar la contaminación entre muestras sucesivas. Sin embargo, los descubridores del análisis por inyección en flujo observaron que se podría eliminar, casi completamente, el exceso de dispersión y la contaminación entre muestras, si se diseñaba correctamente un sistema sin burbujas de aire y que realizara de forma sencilla la mezcla entre muestras y reactivos³.

La ausencia de burbujas de aire le confiere, a las medidas de inyección en flujo, unas ventajas importantes, como son: (1) análisis más rápidos (típicamente entre 100 y 300 muestras/hora), (2) me-

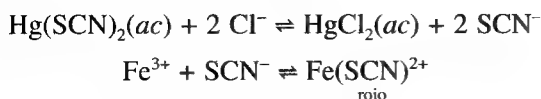
jores tiempos de respuesta (a menudo menores de 1 minuto desde la inyección de la muestra hasta la respuesta del detector), (3) menor tiempo entre la aparición de la señal y el retorno a la línea base (menos de 5 min para cada pico) y (4) equipo mucho más sencillo y versátil, exceptuando el sistema de inyección. Estas dos últimas ventajas tienen una especial importancia, porque hacen factible y económico aplicar medidas automáticas a un número de muestras, no rutinarias, relativamente pequeño. Por tanto, los métodos de flujo continuo ya no deben de quedarse restringidos por más tiempo a situaciones en las que haya un gran número de muestras y el método analítico sea totalmente rutinario. Como consecuencia de estas ventajas, los sistemas de flujo segmentado han sido prácticamente reemplazados por métodos de inyección en flujo (y también por sistemas discretos que utilizan robots).

33B-1. Instrumentación

La Figura 33-1 es un esquema de la configuración más simple de los sistemas de inyección en flujo. En este caso, mediante una bomba peristáltica se impulsa un reactivo colorimétrico, para la determinación del ion cloruro, hasta una válvula, que permite la inyección de las muestras en la corriente de fluido. Después la muestra y el reactivo pasan por un reactor de 50 cm, en forma de serpentín, en el que el reactivo difunde hacia el interior del «bolo»

³ Para las monografías sobre análisis por inyección en flujo, véase J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, 2.^a ed. New York: Wiley, 1988; M. Valcárcel y M. D. Luque de Castro, *Flow Injection Analysis. Principles and Applications*. Chichester, England: Ellis Horwood, 1987; B. Karlberg y G. E. Pacey, *Flow Injection Analysis. A Practical Guide*. New York: Elsevier, 1989.

de muestra originando un compuesto coloreado debido a las siguientes reacciones



La disolución que sale del reactor en serpentín pasa a través de un fotómetro para flujo provisto de un filtro de interferencia de 480 nm.

A la izquierda de la Figura 33-1b se muestra la señal de salida del registrador de este sistema para una serie de patrones que contienen de 5 a 75 ppm de cloruro. Obsérvese que se realizaron cuatro inyecciones de cada uno de los patrones para demostrar la reproducibilidad del sistema. Las dos curvas de la derecha de la figura representan los barridos registrados a gran velocidad de las dos muestras que contienen 30 y 75 ppm de cloruro (R_{30} y R_{75}). Estas curvas demuestran que la contaminación entre muestras, en un flujo no segmentado, es mínima. Así pues, en la cubeta de flujo queda menos de un 1 por 100 del primer analito transcurridos 28 s, momento de la siguiente inyección (S_2). Este sistema se ha utilizado satisfactoriamente en la determinación rutinaria de ion cloruro en aguas salobres y residuales, así como en muestras de suero.

Sistema de transporte de muestras y reactivos

Habitualmente, en un análisis por inyección en flujo la disolución circula a través del sistema por medio de una bomba peristáltica, un dispositivo que comprime, mediante unos rodillos, un fluido (gas o líquido) que se encuentra en el interior de un tubo de plástico. La Figura 33-2 ilustra el fundamento de una bomba peristáltica. En este caso, unas abrazaderas comprimen continuamente el tubo contra los rodillos, para lograr una corriente permanente de fluido a través del tubo. Las bombas modernas suelen tener 8 o 10 rodillos, dispuestos en configu-

ración circular para que, en todo momento, la mitad de ellos presionen sobre el tubo. Este diseño produce un flujo relativamente libre de impulsos. El caudal se controla mediante el diámetro interno del tubo y la velocidad del rotor, que debe ser superior a 30 rpm. En el mercado hay una amplia variedad de tamaños de tubo (d.i. = 0,25 a 4 mm) para lograr caudales tan pequeños como 0,0005 mL/min y tan grandes como 40 mL/min. En las bombas peristálticas habituales los rodillos son lo suficientemente largos como para poder manipular varios tubos a la vez.

Como se indica en la Figura 33-1a, los sistemas de inyección en flujo a veces llevan el tubo enrollado en forma de serpentín (el diámetro normal del serpentín es del orden de 1 cm o menos) cuya misión es aumentar la dispersión axial e incrementar el mezclado radial entre la muestra y el reactivo, lo que origina picos más simétricos.

Inyectores de muestra y detectores

Los inyectores y detectores empleados en análisis por inyección en flujo son similares en cuanto a tipo y requisitos de funcionamiento que los utilizados en HPLC. Los volúmenes de muestra en los procedimientos de inyección en flujo abarcan desde 5 a 200 μL , siendo los más usuales en la mayoría de las aplicaciones los de 10 a 30 μL . En un análisis bien hecho, es vital que la disolución de la muestra se inyecte rápidamente, de golpe o como un bolo de líquido; además, las inyecciones no deben alterar el flujo de la corriente portadora. En la Figura 33-1a puede verse la forma más normal de introducir la muestra. Cuando la válvula de inyección está en la posición indicada, los reactivos fluyen por una derivación, mientras que la muestra fluye a través de la válvula. Cuando se gira la válvula 90 grados, la muestra entra en la corriente y forma una zona perfectamente definida. En la práctica, cuando la válvula está en esta po-

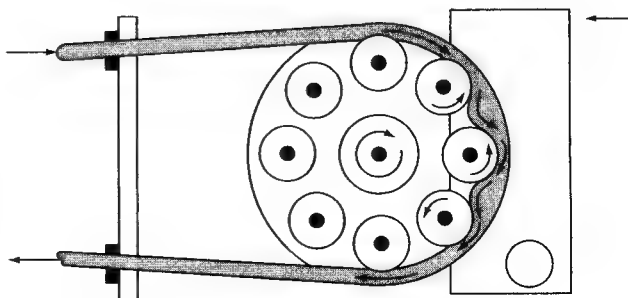


Figura 33-2. Representación de un canal de una bomba peristáltica. En general, se pueden colocar otros tubos adicionales en la parte inferior del canal mostrado (debajo del plano del papel). (De B. Karlberg y G. E. Pacey, *Flow Injection Analysis. A Practical Guide*, pág. 34. New York: Elsevier, 1989. Con autorización de Elsevier Science Publishers.)

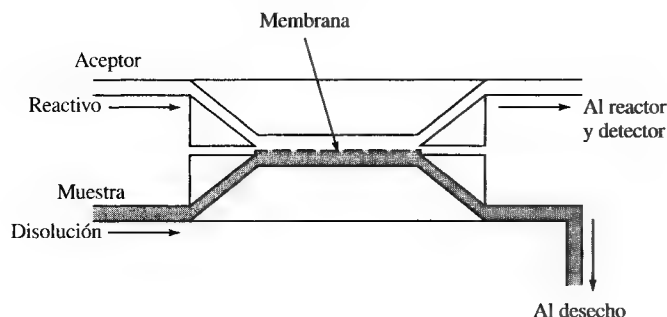


Figura 33-3. Módulo de diálisis. (De M. Valcárcel y M. D. Luque de Castro, *Automatic Methods of Analysis*, página 105. New York: Elsevier, 1988. Con autorización de Elsevier Science Publishers.)

sición, el flujo a través de la derivación cesa porque el diámetro del bucle de muestra es mucho mayor que el del tubo de la derivación. Aunque a veces se usa la inyección con una jeringa, la mejor manera de introducir la muestra es mediante válvulas de bucle similares a las de cromatografía (Figuras 27-4 y 28-7).

En los procedimientos de inyección en flujo, la detección se realiza con equipos de absorción y emisión atómicas; con fluorímetros; sistemas electroquímicos; refractómetros; espectrofotómetros y fotómetros, siendo estos últimos los más utilizados.

Separaciones en FIA

Las separaciones por diálisis, extracción líquido/líquido y difusión gaseosa se pueden realizar rápida y automáticamente con los sistemas de inyección en flujo⁴.

Diálisis y difusión de gases. La diálisis se usa con frecuencia en los métodos de flujo continuo para separar iones inorgánicos, como cloruro o sodio y pequeñas moléculas orgánicas como glucosa, de las especies de peso molecular elevado como las proteínas. Los iones y moléculas pequeñas difunden relativamente rápido, a través de las finas membranas hidrofílicas de acetato o nitrato de celulosa, mientras que las moléculas grandes no lo pueden hacer. La diálisis suele preceder a la determinación de iones o moléculas pequeñas en sangre total o suero.

La Figura 33-3 es un esquema de un módulo de diálisis en el que los analitos, iones o pequeñas moléculas difunden desde la disolución de la muestra, a través de la membrana, hasta una corriente aceptora, que suele contener un reactivo que reacciona

con el analito formando un compuesto coloreado que se determina colorimétricamente. Las moléculas grandes que interfieren en la determinación permanecen en la corriente original hasta que van al desecho. La membrana se coloca entre dos bloques de plástico, en los que se han grabado los canales confluentes para que puedan circular las dos corrientes. La transferencia a través de la membrana, de las especies pequeñas, suele ser incompleta (a menudo menor de un 50 por 100). Por tanto, para un buen análisis cuantitativo hay que controlar estrictamente la temperatura y los caudales de las muestras y los patrones. Tal control es fácil en los sistemas de inyección en flujo.

Una técnica muy selectiva que se ha utilizado bastante en análisis por inyección en flujo es la difusión de gases desde una corriente portadora en la que hay un analito gaseoso hasta una corriente aceptora que contiene un reactivo que permite su determinación. Las separaciones tienen lugar en un módulo similar al de la Figura 33-3. Sin embargo, en esta aplicación la membrana suele ser de un material hidrofóbico microporoso, como Teflón o polipropileno. Un ejemplo de este tipo de separación lo constituye el método para la determinación del carbonato total en una disolución acuosa. En este caso, la muestra se inyecta en una corriente portadora, de ácido sulfúrico diluido, que se dirige hacia el módulo de difusión de gases y, en él, el dióxido de carbono que se ha liberado difunde hasta la corriente aceptora que contiene un indicador ácido/base. A continuación, esta corriente aceptora atraviesa un detector fotométrico originando una señal proporcional al contenido de carbonato en la muestra.

Extracción. Otra técnica habitual de separación, adaptada con facilidad a los métodos de flujo continuo, es la extracción. La Figura 33-4a es un esquema de un sistema para la determinación colorimétrica de un catión inorgánico, extrayéndolo de la

⁴ Para una revisión de las aplicaciones del FIA en la preparación de muestra y separaciones, véase G. D. Clark, D. A. Whitman, G. D. Christian y J. Ruzicka, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **1990**, 21(5), 357.

disolución acuosa de la muestra, con cloroformo conteniendo un agente complejante, como la 8-hidroxiquinolina. En el punto A, se inyecta la disolución orgánica dentro de la corriente portadora que contiene la muestra. En la Figura 33-4b se observa que en este punto la corriente se vuelve segmentada, y está constituida por burbujas sucesivas de la disolución acuosa y del disolvente orgánico. La extracción del complejo metálico se produce en el serpentín. Posteriormente la separación de los dos líquidos inmiscibles tiene lugar en un sencillo separador en forma de T mostrado en la Figura 33-4c. El separador contiene una tira o hebra de Teflón que guía a la fase orgánica, que es más pesada, hacia el brazo inferior de la T desde donde va hasta el detector, que en la Figura 33-4a tiene las siglas FC. Este tipo de separador se puede emplear para líquidos más ligeros si se invierte la T.

Es importante insistir que en los métodos FIA ningún tipo de separación llega a ser completa, pero esto no tiene importancia, porque los patrones y las muestras se tratan exactamente igual. Como ya se ha señalado antes, en los instrumentos automáticos los intervalos de tiempo son tan reproducibles que, aunque se trabaje con separaciones incompletas, no hay pérdida en la precisión y exactitud, como sucede en el caso de operaciones manuales.

33B-2. Fundamento del análisis por inyección en flujo

En un equipo de inyección en flujo, inmediatamente después de inyectar la muestra mediante una válvula, la zona de la muestra tiene un perfil de concentra-

ción rectangular que se muestra en la Figura 33-5a. Al ir circulando por el interior del tubo, tiene lugar un ensanchamiento de la zona o *dispersión*. El perfil resultante depende de dos fenómenos. Uno es la convección, asociada al flujo laminar en el que el centro del fluido avanza más rápidamente que el líquido adyacente a las paredes, lo que da lugar a la zona curvada con perfil parabólico en el frente y un desplazamiento, como se muestra en la Figura 33-5b. También se produce ensanchamiento de zona por la difusión

En principio, pueden producirse dos tipos de difusión: radial o perpendicular a la dirección del flujo y longitudinal o paralela al flujo. Se ha demostrado que la difusión longitudinal, en un tubo estrecho, no es significativa, sin embargo, la difusión radial, siempre y en cualquier circunstancia, es importante. De hecho, para caudales pequeños puede que sea la principal causa de dispersión. Cuando se dan estas circunstancias, el perfil se aproxima a la distribución simétrica de la Figura 33-5d. De hecho los análisis por inyección en flujo normalmente se realizan en unas condiciones, en las que la dispersión se produce tanto por convección como por difusión radial y se obtienen picos similares a los de la Figura 33-5c. En este caso, la dispersión radial desde las paredes hacia el centro tiene una función importante, que es dejar las paredes sin analito y así eliminar la contaminación entre muestras.

Dispersión

La dispersión D se define mediante la ecuación

$$D = c_0/c \quad (33-1)$$

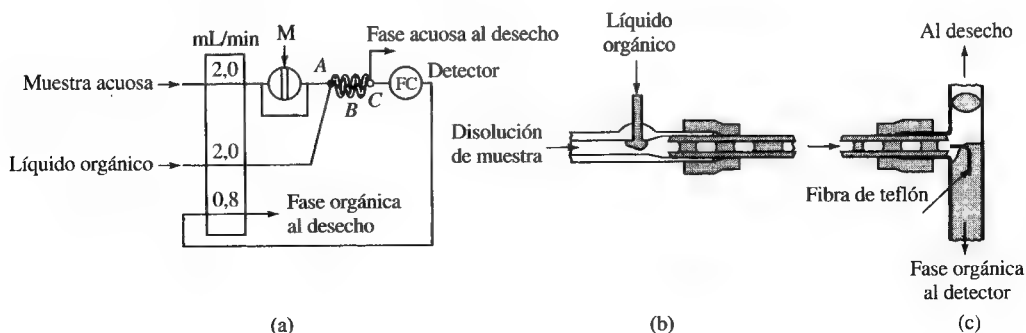


Figura 33-4. (a) Esquema de un sistema de inyección en flujo con un módulo de extracción (ABC). (b) Detalle del punto A, sistema inyector de la fase orgánica. (c) Detalle del punto C, separador. (Adaptado de J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, 2.^a ed. New York: Wiley, 1988. Con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

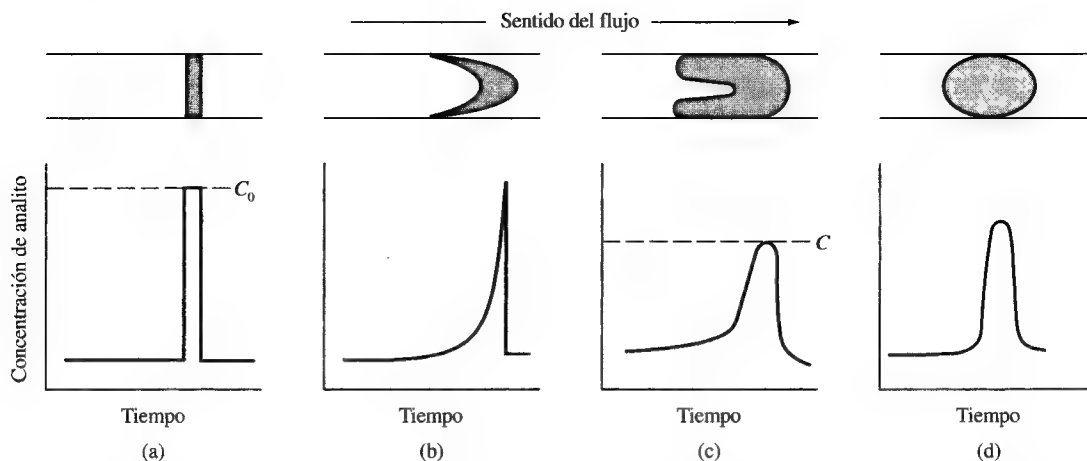


Figura 33-5. Efecto de la convención y de la difusión sobre los perfiles de concentración del analito en el detector: (a) sin dispersión; (b) dispersión por convención; (c) dispersión por convención y por difusión radial; (d) dispersión por difusión. (Reimpreso con autorización de D. Betteridge, *Anal. Chem.*, **1978**, 50, 836A. Copyright 1978 American Chemical Society.)

en la que c_0 es la concentración de analito en la muestra inyectada y c es la concentración correspondiente al pico obtenido en el detector (c) en la Figura 33-5c. La dispersión se mide fácilmente inyectando una solución de colorante de concentración conocida c_0 y a continuación se mide la absorbancia en la cubeta de flujo. Después de la calibración, se calcula c a partir de la ley de Beer.

En la dispersión influyen tres variables interrelacionadas y controlables: el volumen de muestra, la longitud de tubo y la velocidad de bombeo. El efecto del volumen de muestra sobre la dispersión se muestra en la Figura 33-6a; en este caso, las otras dos variables se mantienen constantes. Obsérvese que para volúmenes de muestra grandes, la dispersión llega a ser la unidad porque en estas circunstancias no se mezclan suficientemente la muestra y el portador, por lo que no hay dilución de la misma. Sin embargo, la mayoría de los análisis por inyección en flujo se basan en una interacción entre la muestra y el portador o con el reactivo inyectado. En estos casos, es necesario que la dispersión sea mayor que 1. Por ejemplo, sería necesaria una dispersión de 2 si la muestra y el portador se mezclan en una proporción 1:1. La enorme influencia del volumen de muestra en la altura de pico, indicada en la Figura 33-6a, subraya la necesidad de que los volúmenes de inyección sean perfectamente reproducibles cuando se trabaja con valores de dispersión de 2 o mayores. Para obtener una precisión buena, hay que controlar también las demás condiciones con sumo cuidado.

La Figura 33-6b pone de manifiesto el efecto de la longitud de tubo en la dispersión cuando se mantienen constantes el tamaño de muestra y la velocidad de bombeo. En este caso, el número sobre cada pico indica la longitud que ha recorrido la muestra en centímetros.

33B-3. Aplicaciones del análisis por inyección en flujo

En la bibliografía sobre inyección en flujo se encuentran, con frecuencia, los términos *dispersión limitada*, *media* y *grande* y se refieren a dispersiones de 1 a 3; 3 a 10 y mayores de 10 respectivamente. Se han desarrollado métodos basados en los tres tipos de dispersión

Aplicaciones de la dispersión limitada

Las técnicas de inyección en flujo de dispersión limitada han tenido una considerable aplicación como sistemas de introducción de la muestra a alta velocidad en sistemas que utilizan como sistema de detección la absorción y emisión atómicas y el plasma de acoplamiento inductivo. Habitualmente, en estas técnicas se aspiran directamente las alícuotas de la muestra en la llama o en el plasma, y se mide la señal en estado estacionario. Por el contrario, en el procedimiento de inyección en flujo se bombea continuamente un blanco a través del sistema hasta el detector, para obtener la señal de la

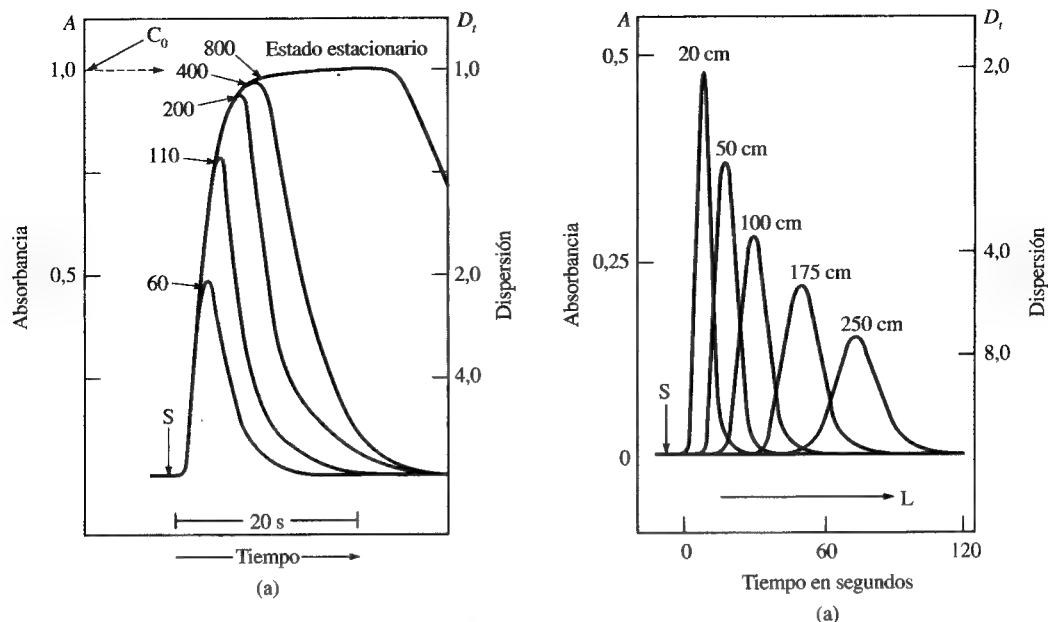


Figura 33-6. Efecto del volumen de muestra y de la longitud de tubo en la dispersión. (a) Longitud de tubo: 20 cm; caudal: 1,5 mL/min; los volúmenes se indican en μL . (b) Volumen de muestra: 60 μL ; caudal: 1,5 mL/min. (De J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, 1980, 114, 21. Con autorización.)

línea base y a continuación se van inyectando las distintas muestras periódicamente y se van registrando las correspondientes señales transitorias del analito. Se han descrito velocidades de muestreo mayores de 300 muestras por hora.

La inyección con dispersión limitada se ha usado también con detectores electroquímicos como los electrodos selectivos de iones y los microelectrodos voltamperométricos. La utilización del método de inyección en flujo para obtener datos como pH, pCa o pNO_3 , se justifica por el pequeño tamaño de muestra necesario ($\approx 25 \mu\text{L}$) y por el poco tiempo que requiere la medida ($\approx 10 \text{ s}$), puesto que las medidas se toman bastante antes de que se alcance el estado estacionario de equilibrio, que en muchos electrodos selectivos de iones puede ser de uno o varios minutos. Las señales transitorias de la muestra y los patrones, con medidas por inyección en flujo, proporcionan datos analíticos de la misma exactitud. Por ejemplo, se ha publicado que las medidas de pH en suero sanguíneo se pueden llevar a cabo con una velocidad de 240 muestras/hora y una precisión de $\pm 0,002$ unidades de pH. Los resultados se visualizan a los 5 s de inyectar la muestra.

En general, las condiciones de dispersión limitada se consiguen reduciendo al máximo la distancia entre el inyector y el detector, disminuyendo la

velocidad de bombeo y aumentando el volumen de muestra. Así, para las medidas de pH descritas la longitud del tubo, de diámetro 0,5 mm, sólo era de 10 cm y el tamaño de muestra fue de 30 μL .

Aplicaciones de la dispersión media

La Figura 33-7a representa un sistema de dispersión media para la determinación colorimétrica de calcio en suero, leche y agua potable. En este ejemplo, el tampón de bórax y el reactivo de color se mezclan antes de la inyección en A en un serpentín para mezcla de 50 cm. La Figura 33-7b es el registro para tres muestras por triplicado y cuatro patrones por duplicado.

La Figura 33-8 representa un sistema más complicado para la determinación espectrofotométrica de cafeína en preparados farmacéuticos, después de su extracción con cloroformo. El cloroformo, enfriado en un baño de hielo para minimizar la evaporación, se mezcla con el canal alcalino de la muestra, en un tubo en forma de T. Después de pasar por un serpentín de extracción de 2 m, la mezcla entra en un tubo separador en forma de T, y es bombeada de tal forma que logra diferenciar ambas fases; así, alrededor de un 35 por 100 de la fase orgánica pasa a través de la cubeta de flujo, y el

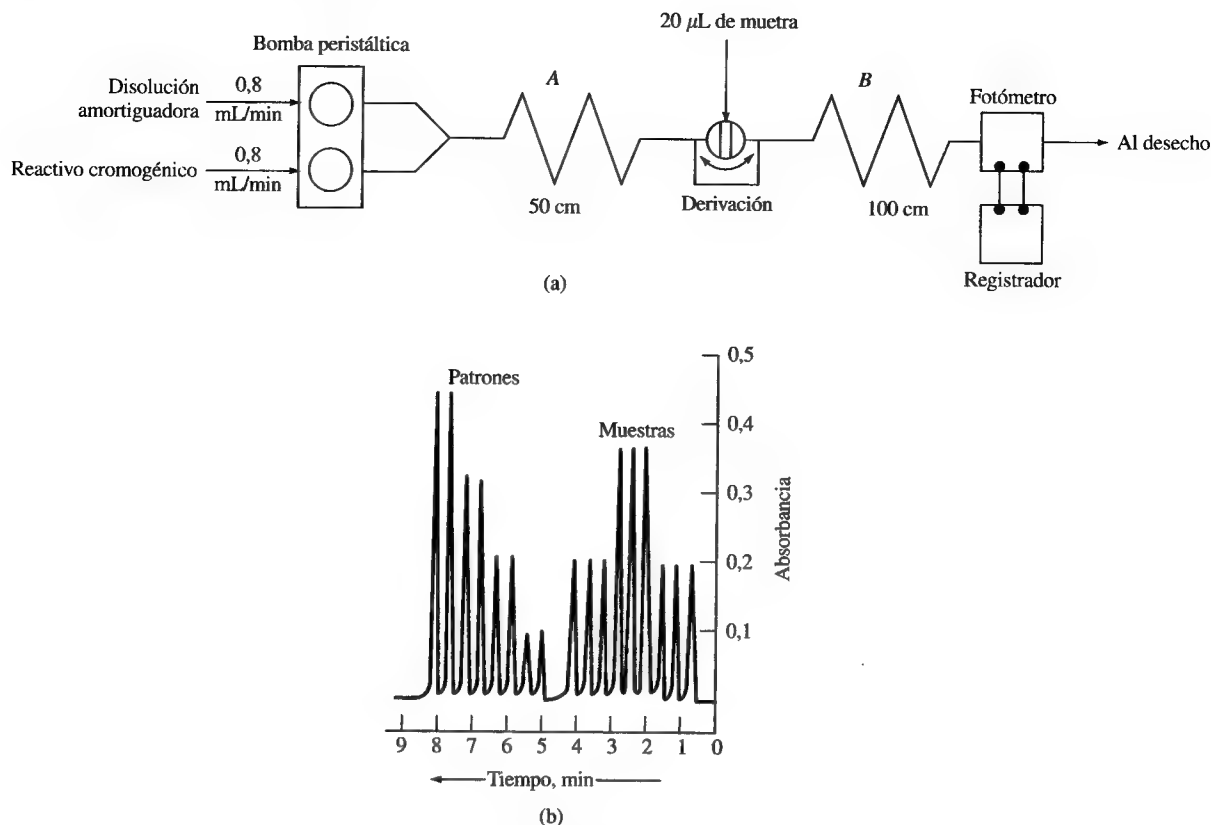


Figura 33-7. (a) Equipo de inyección en flujo para la determinación de calcio en agua mediante la formación, a pH 10, de un complejo coloreado con *o*-cresoltaleína complexona. Todos los tubos tienen un diámetro interno de 0,5 mm. A y B son reactores en serpentín con las longitudes indicadas. (b) Registro. Los tres conjuntos de picos de la derecha corresponden a inyecciones de tres muestras por triplicado. Los cuatro de la izquierda son inyecciones por duplicado de patrones de 5, 10, 15 y 20 ppm de calcio. (De E. H. Hansen, J. Ruzicka y A. K. Ghoe, *Anal. Chim. Acta*, **1978**, 100, 151. Con autorización.)

restante 65 por 100 va con la fase acuosa al desecho. Para evitar que la cubeta de flujo se contamine con agua, se retuercen en forma de hebra algunas fibras de Teflón, que no se mojan con el agua, y se introducen en la entrada del tubo en T formando un codo hacia abajo; entonces el flujo de cloroformo sigue por este codo hasta la cubeta del fotómetro.

Métodos de flujo detenido

Ya se ha indicado antes que la dispersión en tubos de pequeño diámetro disminuye con el caudal. De hecho, se ha visto que la dispersión cesa casi totalmente cuando se detiene el flujo. Este hecho se aprovecha para aumentar la sensibilidad de las medidas, al dejar un tiempo para que las reacciones sean completas, sin que se diluya la zona de muestra por dispersión. Para este tipo de aplicaciones, se

necesita un dispositivo de control del tiempo que sea capaz de detener la bomba a tiempos muy exactos e intervalos regulares.

Una segunda aplicación del método de flujo detenido es en medidas cinéticas. En este caso, el flujo se detiene cuando la mezcla de reacción está en la cubeta de flujo, pudiéndose así seguir las variaciones de concentración de los reactantes y productos en función del tiempo. Esta técnica se aplicó por primera vez a la determinación enzimática de la glucosa utilizando para ello la enzima glucosa-deshidrogenasa⁵. La reacción se lleva a cabo en presencia del coenzima dinucleótido de nicotinamida y adenina, que sirve como cromóforo ($\lambda_{\text{máx}} = 340 \text{ nm}$). De este modo se pueden analizar hasta 120 muestras/hora. El procedimiento tiene la gran virtud de

⁵ J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **1979**, 106, 207.

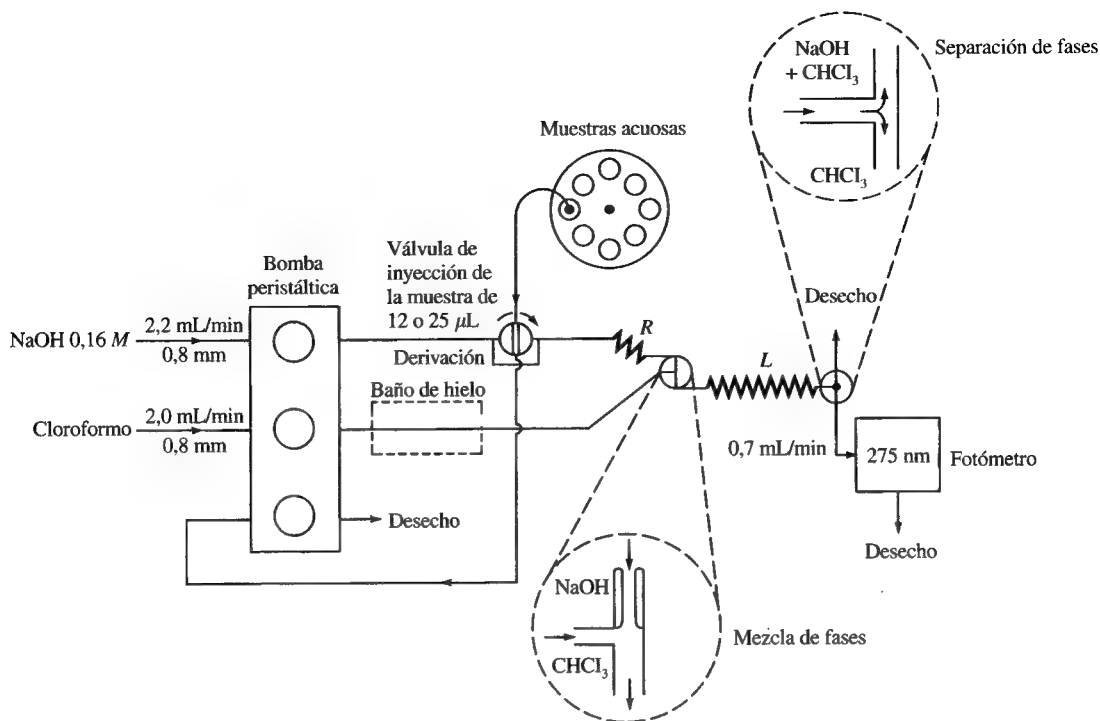


Figura 33-8. Equipo de inyección en flujo para la determinación de cafeína en preparados de ácido acetilsalicílico. Cuando la válvula gira 90 grados, el flujo es casi cero en la derivación debido a su pequeño diámetro. *R* y *L* son serpentines de Teflón de 0,8 mm de diámetro interno; *L* tiene una longitud de 2 m, mientras que la distancia desde el punto de inyección a través de *R* hasta el punto de mezcla es de 0,15 m. (Adaptado de B. Karlberg y S. Thelander, *Anal. Chim. Acta*, 1978, 98, 2. Con autorización.)

consumir menos de una unidad de esta enzima, tan cara, por muestra.

Valoraciones por inyección en flujo

Las valoraciones también se pueden realizar de forma continua en un sistema de inyección en flujo. En este caso, la muestra inyectada se mezcla con el portador en una cámara de mezcla que da lugar a una gran dispersión. La mezcla se transporta, a continuación, hasta un punto de confluencia adecuado donde se mezcla con el reactivo que contiene un indicador. Si se ajusta el detector para que responda al color del indicador, en presencia de un exceso de analito, se obtienen picos como los de la Figura 33-9. En este ejemplo, se valora un ácido con una disolución patrón de hidróxido de sodio, que contiene el indicador azul de bromotimol. Al inyectar las muestras, la disolución cambia de azul a amarillo y permanece con este color hasta que se consume el ácido, momento en el que de nuevo se vuelve azul. Como se indica en la figura, la con-

centración de analito se determina a partir de la anchura de los picos a mitad de su altura. Este tipo de valoraciones se puede realizar a una velocidad de 60 muestras/hora.

33B-4. Un sistema automatizado para controlar las concentraciones de mercurio

La Figura 33-10 es un esquema de un equipo totalmente automatizado para controlar el contenido de mercurio de las aguas residuales de un edificio de laboratorios. El sistema contiene dos bombas peristálticas llamadas 1 y 2. La bomba 1 produce caudales de unos 3 mL/min y se utiliza para manipular el aire, la muestra y un agua refrigerada que alimenta un condensador. La bomba 2 con un caudal de aproximadamente 0,1 mL/min introduce tres reactivos. La muestra se mezcla primero con ácido sulfúrico y con una disolución al 4 por 100 de persulfato de potasio, un potente agente oxidante. Esta

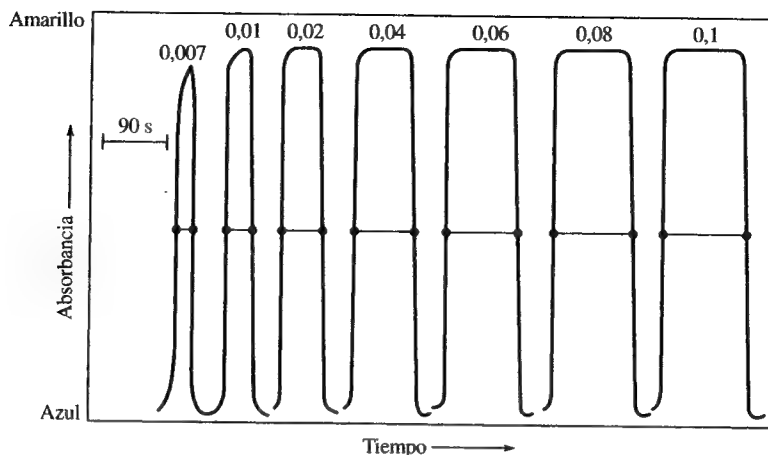


Figura 33-9. Valoración por inyección en flujo de HCl con NaOH 0,001 M. Las molaridades de las soluciones de HCl se indican en la parte superior de la figura. El indicador es azul de bromotimol. El intervalo de tiempo entre los puntos constituye una medida de la concentración del ácido. (De J. Ruzicka, E. H. Hansen y M. Mosback, *Anal. Chim. Acta*, **1980**, 114, 29. Con autorización.)

mezcla pasa a un reactor que se mantiene, en un baño de agua, a una temperatura de 80 °C. El reactor es un serpentín de Tygon de 10 m de largo y un diámetro de 1 mm. Los componentes de la matriz orgánica se oxidan en este punto y el mercurio, en el entorno caliente, se convierte en iones mercurio(II). Entonces la disolución oxidada pasa a un segundo reactor, después de haberse mezclado con una di-

solución fuerte de cloruro de estaño(II) y una corriente de burbujas de aire. Ahora la mezcla pasa a través de un separador gas-líquido que dirige el vapor hasta un condensador en el que se enfría a 0 °C. El vapor de mercurio seco restante se lleva a un fotómetro y se mide su absorbancia a 253,7 nm. Estos datos de absorbancia se van transformando directamente en concentraciones de mercurio y re-

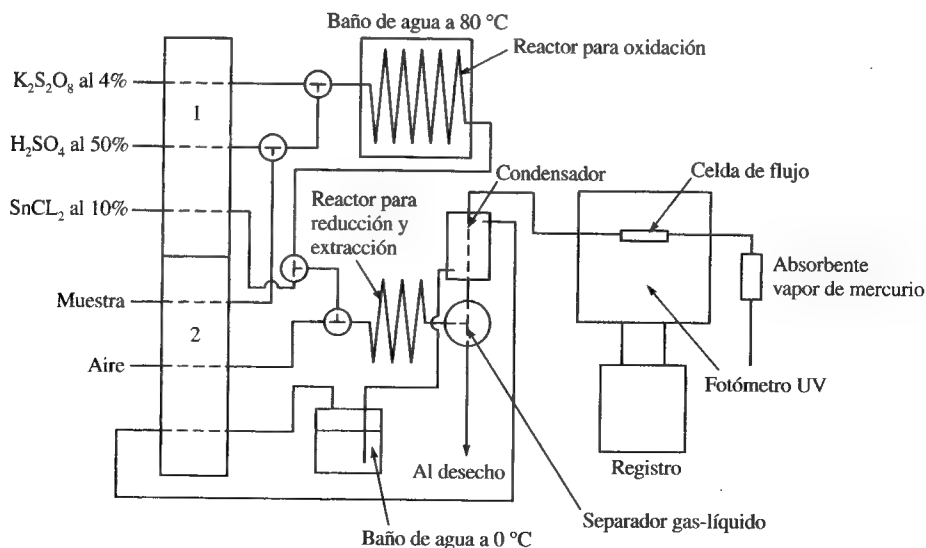
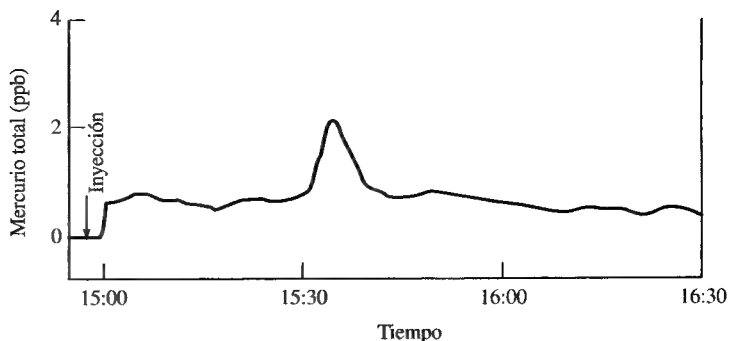


Figura 33-10. Sistema automático para determinar mercurio en aguas residuales. (1) Bomba peristáltica que produce un caudal de 3 mL/min. (2) Bomba peristáltica cuyo flujo es 0,1 mL/min. (Adaptado de M. Gota, *TrAC*, **1983**, 2(4), 92. Con autorización de la Royal Society of Chemistry.)

Figura 33-11. Resultado del control continuo de mercurio en las aguas residuales de unos laboratorios químicos. (Adaptado de M. Gota, *TrAC*, 1983, 2(4), 92. Con autorización de la Royal Society of Chemistry.)



gistrando. La Figura 33-11 muestra un registro característico del equipo, durante una hora y media, en una tarde. Se observa que hacia las 15:30 hay un aumento significativo de la concentración de mercurio durante unos 10 minutos.

dentro de un tipo general. Por ejemplo, hay diversos valoradores automáticos que pueden realizar valoraciones de neutralización, precipitación, formación de complejos y de oxidación-reducción siguiendo las directrices de un ordenador programado por el usuario. En este apartado se describen algunos sistemas discontinuos característicos.

33C. SISTEMAS AUTOMÁTICOS DISCONTINUOS

En el mercado se puede encontrar una amplia variedad de sistemas automáticos discontinuos. Algunos de estos equipos se diseñan para realizar una o varias de las operaciones unitarias enumeradas en la Tabla 33-1 y otros son capaces de hacer automáticamente un análisis completo. Algunos sistemas discontinuos se han diseñado para realizar solamente un análisis determinado, por ejemplo, la determinación de nitrógeno en compuestos orgánicos. Otros pueden realizar diferentes análisis pero

33C-1. Muestreo automático y definición de la muestra en líquidos y gases

Los fabricantes de instrumentos disponen de varias docenas de dispositivos automáticos para el muestreo de líquidos y gases. La Figura 33-12 ilustra el fundamento de los muestreadores de bomba reversible. Este dispositivo consta de una sonda móvil, que es una aguja de jeringa o un tubo fino de plástico sujeta por un brazo que, a intervalos, puede levantar el extremo de la aguja o del tubo desde el

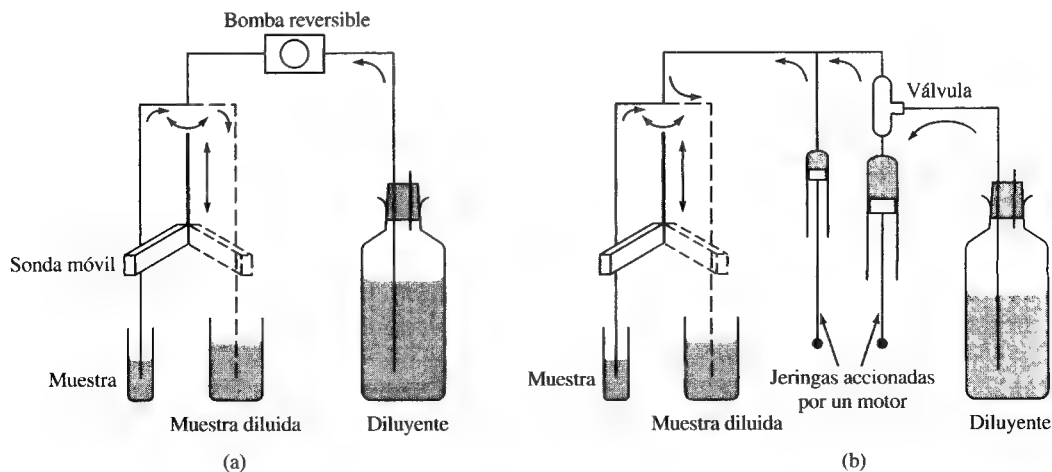


Figura 33-12. Muestreadores automáticos: (a) de bomba reversible; (b) de jeringa.

recipiente de la muestra, y la coloca sobre un segundo recipiente en el que se realiza el análisis. Este movimiento está sincronizado con el funcionamiento de una bomba peristáltica reversible. En la Figura 33-12a se ve que la sonda está en el recipiente de la muestra y que la bomba impulsa el líquido desde la izquierda a la derecha durante un corto período de tiempo. A continuación, la sonda se eleva; se coloca en el recipiente de la derecha y la dirección del bombeo se invierte. Este bombeo continúa hasta que se ha suministrado la muestra y el volumen deseado de diluyente. Entonces la sonda vuelve a su posición original para tomar la muestra del siguiente recipiente. No es necesario decir que el volumen de muestra es siempre lo bastante pequeño como para que no llegue nunca nada de la muestra a la bomba o al recipiente del diluyente. Los muestreadores de bomba reversible suelen usarse conjuntamente con una bandeja circular rotatoria de muestras. Las bandejas de este tipo generalmente disponen de 40 o más muestras contenidas en pequeños tubos o recipientes de plástico o vidrio. La rotación de la bandeja está sincronizada con el brazo móvil del muestreador, para que las muestras se tomen de manera secuencial.

La Figura 33-12b representa un muestreador y diluidor de jeringa característicos. De nuevo aquí se usa una sonda móvil para la muestra. Cuando la sonda está en el recipiente de la muestra, el émbolo de la jeringa movido por un motor (a la izquierda de la figura) retira un determinado volumen de muestra. Simultáneamente, la jeringa de la derecha extrae un volumen determinado de diluyente (por lo general, mayor). La válvula de la figura permite que estos dos procesos funcionen independientemente. Cuando la sonda se coloca en el recipiente de la derecha, ambas jeringas se vacían, dispensando los dos líquidos en el recipiente analítico.

En general, los inyectores de jeringa se guían por motores paso a paso controlados por ordenador, que expulsan el líquido de la jeringa mediante una serie de impulsos idénticos. Así, por ejemplo, una jeringa de 1 mL movida por un motor que necesita 1.000 pasos para vaciarla se puede regular hasta 1×10^{-3} mL o 1 μ L. Para un motor de 5.000 pasos, la precisión podría ser de 0,2 μ L.

33C-2. Robótica

En el caso de los sólidos, la preparación, definición y disolución de la muestra supone distintas opera-

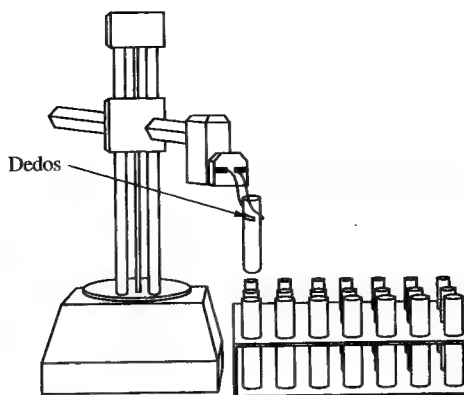
ciones unitarias como triturar, homogeneizar, secar, pesar, calcinar, fundir y tratar con disolventes. Cada uno de estos procedimientos individuales ha sido automatizado. Sin embargo, recientemente han aparecido instrumentos que se puedan programar para realizar, de forma secuencial, algunas de estas operaciones unitarias sin intervención de un operador. Generalmente estos equipos se basan en los pequeños robots de laboratorio, que aparecieron por primera vez en el mercado a mediados de los años ochenta⁶. La Figura 33-13 es un esquema de un sistema automatizado de laboratorio que dispone de uno de estos robots. En el centro del sistema hay un brazo horizontal montado sobre dos pilares, y dotado de un movimiento con cuatro grados de libertad. Su movimiento rotacional es de 360 grados y con un alcance máximo de 61 cm, lo que significa que puede acceder a casi todas las posiciones de una circunferencia de aproximadamente 383 cm. El dispositivo va equipado con una mano tipo pinza, cuyo movimiento de muñeca es de 360 grados y permite manipular viales o tubos, dispensar líquidos o sólidos y agitar líquidos en los tubos. Por tanto, el brazo y la mano pueden realizar muchas de las operaciones manuales propias del químico en un laboratorio. Una característica importante de este robot es su capacidad de intercambiar manos. Así pues, el robot puede dejar su mano de pinza en la mesa y colocarse en su lugar una jeringa para pipetear líquidos.

El sistema se controla por un microprocesador programable por el usuario. Por tanto, al robot se le puede «enseñar» mediante instrucciones a llevar las muestras hasta la estación central del laboratorio en donde se pueden diluir, filtrar, dividir, triturar, centrifugar, homogeneizar, extraer y tratar con reactivos.

También se le puede enseñar a calentar y agitar muestras, dispensar volúmenes medidos de líquidos, inyectar muestras en una columna cromatográfica y recoger fracciones de una columna. Además, el robot puede acoplarse con una balanza electrónica automática para pesar muestras.

Una aplicación característica de este dispositivo es el cribado rutinario de nuevos compuestos sintéticos en función de su actividad electroquímica.

⁶ Para una descripción de los robots de laboratorio disponibles en el mercado, y sus características, véase J. R. Strimatis, *J. Chem. Educ.*, **1989**, 66, A8; **1990**, 67, A20; V. Berry, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 337A; R. Dessy, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 1100A, 1232A; W. J. Hurst y J. W. Mortimer, *Laboratory Robotics*. New York: VCH Publishers, 1987.



(a)

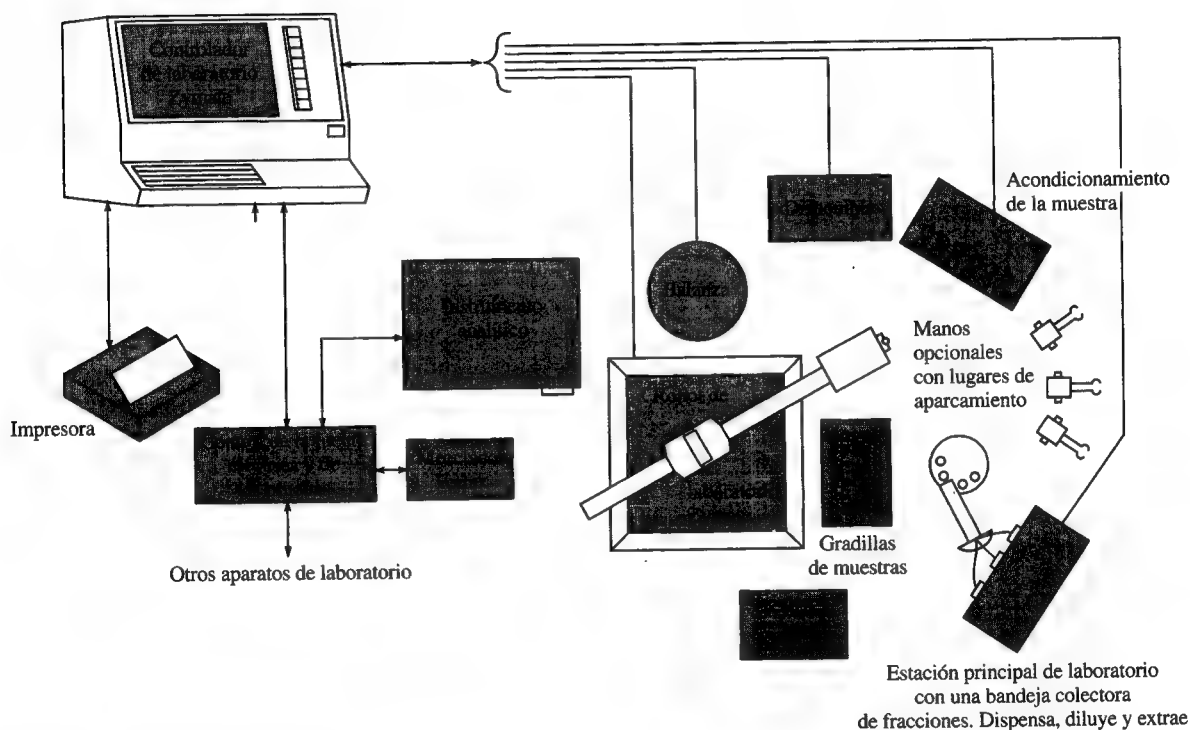


Figura 33-13. Sistema robótico de laboratorio: (a) brazo y mano del robot; (b) sistema completo. (Cortesía de Zymark Corporation, Hopkinton, MA.)

ca⁷. En este caso, el robot limpia, llena y desgasifica la celda electroquímica, introduce las muestras, realiza las adiciones de patrones, conecta y desconecta el analizador voltamperométrico y registra los datos. Los análisis se realizan con una desviación estándar relativa del 2 por 100.

⁷ M. L. Dittenhafer y J. D. McClean, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 1242A.

También se ha descrito otro sistema robótico que automatiza totalmente la obtención de las curvas de valoración de pH para muestras sólidas⁸. Este sistema realiza de forma secuencial y automática la pesada de la muestra, disolución, dilución, calibración del pHmetro, obtención de los datos de

⁸ G. D. Owens y R. J. Eckstein, *Anal. Chem.*, **1982**, 54, 2347.

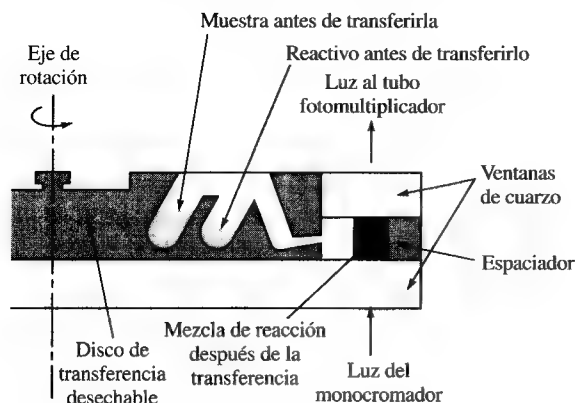


Figura 33-14. Rotor de un analizador centrífugo. (Reproducido con autorización de R. L. Coleman, W. D. Shults, M. T. Kelley y J. A. Dean, *Amer. Lab.*, 1971, 3(7), 26. Copyright International Scientific Communications, Inc.)

la valoración, selección del punto final y, por último, la elaboración de un informe. Indiscutiblemente, en un futuro próximo, aparecerán nuevos instrumentos de este tipo.

33C-3. El analizador centrífugo

Un tipo de analizador discontinuo capaz de analizar un único constituyente en 16 muestras simultáneamente se basa en el uso de una centrífuga para mezclar las muestras con un reactivo, y luego transferirlas a las cubetas para las correspondientes medidas fotométricas o espectrofotométricas⁹. El sistema está diseñado de tal forma que se cambia fácilmente de reactivo.

El fundamento de este instrumento se muestra en la Figura 33-14, que es una vista de la sección transversal del rotor circular de plástico de una centrífuga. El rotor tiene 17 compartimentos dobles dispuestos radialmente alrededor del eje de rotación. Las muestras y los reactivos, como se observa, se pipetea automáticamente en estos 16 compartimentos; el disolvente y el reactivo se añaden en el decimoséptimo para que sea el blanco. Cuando el rotor gira, alcanzando una velocidad de unas 350 rpm, se mezclan simultáneamente los reactivos con los líquidos de los 17 compartimen-

tos, y son empujados hasta unas cubetas individuales colocadas en la parte exterior del rotor. El mezclado se acelera insuflando aire a través de las mezclas. Las cubetas llevan unas ventanas de cuarzo horizontales. Una radiación, que procede de un espectrofotómetro o de un fotómetro de filtros de interferencia, atraviesa las cubetas y llega a un tubo fotomultiplicador. En cada rotación se producen una serie de impulsos eléctricos del detector, 16 para las muestras y 1 para el blanco. Entre cada uno de estos impulsos hay una señal correspondiente a la corriente oscura. Las sucesivas señales del instrumento se guardan en la memoria de su microprocesador para su tratamiento posterior. La media de las señales puede emplearse para mejorar la relación señal/ruido.

Una de las aplicaciones más importantes del analizador centrífugo es la determinación de enzimas. Habitualmente, los análisis de enzimas se basan en el efecto catalítico del analito sobre una reacción, en la que se forma o consume una especie absorbente. En este caso se prepara una curva de calibrado que relaciona la velocidad de formación o desaparición de la especie absorbente con la concentración de enzima y sirve como base para el análisis. El analizador centrífugo permite determinar, simultáneamente, la velocidad de las 16 reacciones exactamente en las mismas condiciones y, por tanto, es factible realizar los 16 análisis de enzimas al mismo tiempo.

33C-4. Analizadores elementales orgánicos automáticos

Distintas casas comerciales fabrican instrumentos automáticos para analizar algunos de los elementos más comunes en compuestos orgánicos, tales como carbono, hidrógeno, oxígeno, azufre y nitrógeno¹⁰. Todos estos instrumentos se basan en la oxidación a elevadas temperaturas de los compuestos orgánicos, que convierten a los elementos de interés en moléculas gaseosas. En algunos equipos los gases se separan en una columna cromatográfica; en otros, las separaciones se basan en absorbentes específicos. En la mayoría de los instrumentos, las determinaciones se completan mediante una detección por conductividad térmica. A menudo estos

⁹ Para una breve descripción de un sistema característico, véase C. S. Scott y C. A. Burtis, *Anal. Chem.*, 1973, 45(3) 327A; C. D. Scott y C. A. Burtis, *Centrifugal Analysis in Clinical Chemistry*. New York: Praeger, 1980; B. B. Lentricchia, M. F. Turanchik y K. K. Yeung, *Am. Biotechnol. Lab.*, 1987, 5(3), 17.

¹⁰ Para una descripción de estos instrumentos, véase T. S. Ma y R. C. Rittner, *Modern Organic Elemental Analysis*, Capítulos 2, 3, y 4. New York: Marcel Dekker, 1979.

equipos poseen dispositivos que introducen de forma automática las muestras, ya pesadas, en el área de combustión.

La Figura 33-15 muestra el esquema de un equipo automático comercial para la determinación de carbono, hidrógeno y nitrógeno. En este instrumento, las muestras se oxidan a 900 °C, en condiciones estáticas, en una atmósfera de oxígeno puro que produce una mezcla gaseosa de dióxido de carbono, monóxido de carbono, agua, nitrógeno elemental y óxidos de nitrógeno. Después de unos 2 a 6 minutos dentro de una atmósfera de oxígeno, una corriente de helio arrastra los productos hasta un horno tubular a 750 °C, en donde el cobre caliente reduce los óxidos de nitrógeno a nitrógeno elemental y elimina el oxígeno en forma de óxido de cobre. También hay óxido de cobre adicional para convertir el monóxido de carbono en dióxido. Los halógenos se eliminan mediante un relleno de lana de plata.

Los compuestos procedentes del horno de reacción pasan a una cámara de mezcla en la que alcanzan una temperatura constante. Después, se analiza la mezcla homogénea resultante pasándola por una serie de tres detectores de conductividad térmica de precisión, cada uno de ellos constituido por un par de celdas sensoras.

Entre las dos primeras celdas hay una trampa de absorción, con perclorato de magnesio, que elimina el agua y, entonces, la señal diferencial se utiliza como una medida del hidrógeno de la muestra. El dióxido de carbono se elimina en una segunda trampa de absorción. De nuevo, la diferencia de

señales entre el segundo par de celdas constituye una medida del carbono de la muestra. El gas remanente compuesto por helio y nitrógeno pasa a través de la tercera celda detectora. La señal de salida de esta celda se compara con la de una celda de referencia por la que fluye helio puro. La diferencia de potencial entre este par de celdas se relaciona con la cantidad de nitrógeno de la muestra.

Para analizar el oxígeno, el tubo de reacción se reemplaza por un tubo de cuarzo lleno de carbono platinizado. Cuando la muestra se piroliza en helio y se hace fluir a través de este tubo, todo el oxígeno se transforma en monóxido de carbono que, a su vez, al pasar por óxido de cobre caliente se transforma en dióxido de carbono. El resto del procedimiento es igual al ya descrito, pero relacionando la concentración de oxígeno con la señal diferencial entre antes y después de la absorción del dióxido de carbono.

Para el análisis de azufre, la muestra se quema en una atmósfera de oxígeno dentro de un tubo relleno de óxido de wolframio(VI) u óxido de cobre. El agua se elimina con un agente deshidratante que se coloca en la zona fría del mismo tubo. A continuación, el dióxido de azufre seco se separa y se determina mediante la señal diferencial respecto a la que tiene normalmente el puente de detección de hidrógeno. Sin embargo, en este ejemplo, el dióxido de azufre se absorbe en un reactivo de óxido de plata.

El instrumento de la Figura 33-15 puede automatizarse totalmente, para lo cual se colocan en una bandeja circular hasta 60 muestras previamente pesadas, en pequeñas cápsulas, para la toma de muestra automática.

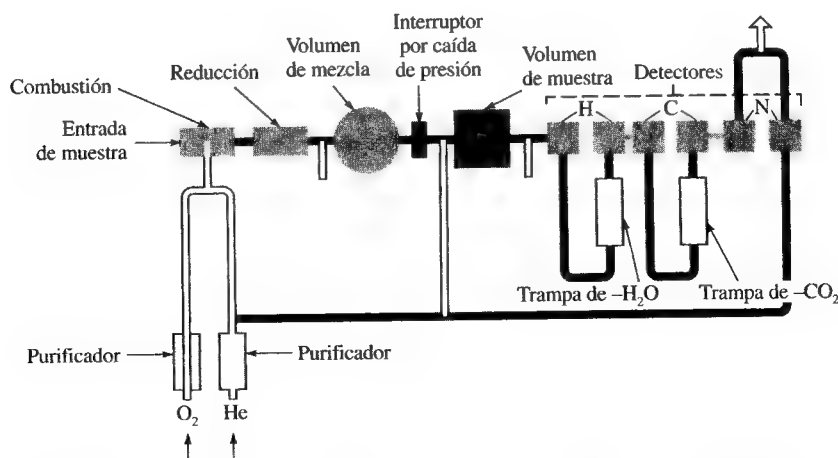


Figura 33-15. Analizador automático de C, H y N (Cortesía de Perkin-Elmer, Norwalk, CT.)

33D. ANÁLISIS CON TIRAS REACTIVAS MULTICAPAS

Durante las dos últimas décadas, se ha desarrollado una tecnología para realizar las distintas etapas de un análisis cuantitativo de forma automática en unas tiras individuales formadas por varias capas de reactivos colocadas sobre unas placas transparentes desechables del tamaño de un sello de correos.

En este caso, se coloca una gotita de muestra (10 a 50 μL) en la parte superior de la tira, que se esparce de forma rápida y uniforme. El agua y los componentes de pequeño peso molecular difunden desde la zona esparcida por las capas de reactivo, una o varias, y el analito interacciona originando un producto coloreado (o en ocasiones fluorescente), que seguidamente se determina por fotometría de reflectancia. Hasta la fecha, esta tecnología se ha aplicado para la determinación rutinaria de metabolitos en sangre, como la glucosa, de enzimas en suero, como lactato deshidrogenasa, y de fármacos en muestras de sangre. Además, se ha desarrollado una modificación de la técnica que permite la determinación potenciométrica de electrólitos, como potasio, en suero sanguíneo.

Como ya se ha indicado previamente, cada año se realizan en los laboratorios clínicos de todo el mundo cientos de millones de estas determinaciones, generalmente con instrumentos automáticos discontinuos o de flujo continuo. Como el coste de los instrumentos es elevado, solamente se encuentran en laboratorios centralizados, para que se puedan amortizar al analizar gran cantidad de muestras. La aparición de las tiras reactivas supuso que ahora sea rentable realizar automáticamente algunos análisis clínicos rutinarios en laboratorios no centralizados, incluso en las consultas médicas y finalmente se harán en la propia casa¹¹. De hecho, hoy día existen «kits» de control de glucosa para ser utilizadas por diabéticos insulín dependientes.

33D-1. Fundamento general

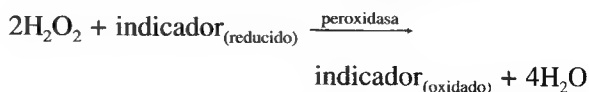
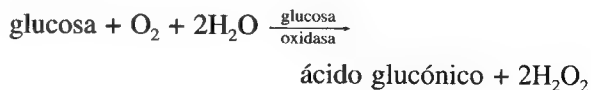
El desarrollo de tiras reactivas para análisis químico es una consecuencia de la tecnología desarrollada por la industria fotográfica del color en la produc-

ción de películas multicapa en las que tienen lugar reacciones químicas complejas. Por ejemplo, una típica película de color instantánea está compuesta de hasta 15 capas distintas, de espesor entre 1,5 y 5 μm . Una de estas capas contiene un líquido revelador, que al liberarse se difunde por las restantes capas, en las que transcurren una serie de reacciones químicas, que al final conducen a la deposición de los colorantes rojo, verde y azul en las zonas fotosensibilizadas por la exposición de la cámara fotográfica.

Esta misma tecnología permite realizar análisis químicos automáticos basados en una secuencia de reacciones físicas o químicas. Por ejemplo, el producto de una reacción química producido en la primera capa se puede separar de las interferencias mediante una difusión selectiva al atravesar desde la segunda a la tercera capa que es donde tiene lugar la reacción. Así, cada capa de una tira es un ámbito separado en el que se lleva a cabo una reacción química o una separación física. Para cada tipo de análisis, se miniaturiza una serie completa de reactivos en forma seca y desechable. La reconstitución de los reactivos y otras muchas manipulaciones manuales generalmente se reemplazan por la única etapa de aplicar la muestra a la tira. Los instrumentos utilizados para la medida de las tiras reactivas se denominan con frecuencia *analizadores de película en fase sólida*.

33D-2. Estructura de las tiras

La mayoría de las tiras constan de un soporte transparente, una o varias capas de reacción, una capa reflectora y una capa difusora o medidora. La Figura 33-16a es un esquema de la sección transversal de una tira, disponible en el mercado para la determinación de glucosa en suero. El proceso químico que ocurre en la capa de reactivo se debe a las reacciones:



El producto de reacción es un colorante oxidado que absorbe intensamente a 495 nm.

La capa de reactivo contiene, además del indicador redox, las enzimas glucosa oxidasa y peroxi-

¹¹ Para revisiones de artículos científicos que describan esta tecnología, véase B. Walter, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 499A; H. G. Curme y col., *Clin. Chem.*, **1978**, 24, 1335; R. W. Spayd y col., *Clin. Chem.*, **1978**, 24, 1343.

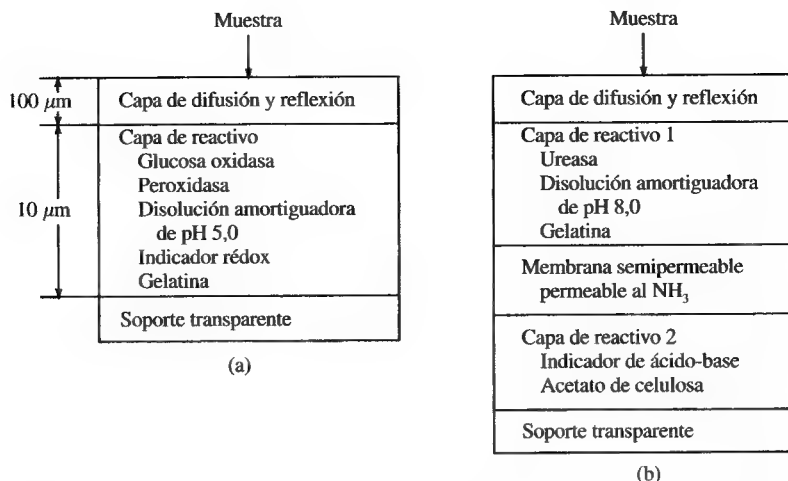


Figura 33-16. Sección transversal de dos tiras reactivas comerciales para la determinación de: (a) glucosa y (b) nitrógeno ureico en sangre, BUN. Se advierte que el espesor de la tira no está representado a escala.

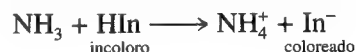
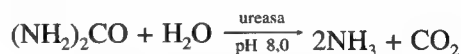
dasa y un tampón de pH 5,0. Todos ellos están inmovilizados en un aglomerante de gelatina de unos 10 µm de espesor. Esta película se apoya en otra placa rígida de plástico transparente.

La capa difusora o medidora sobre la que se coloca una gota de muestra, normalmente tiene un espesor de 100 µm y está compuesta por acetato de celulosa en el que se dispersa dióxido de titanio como reflectante. La capa difusora tiene tres funciones. La primera es reflejar la radiación procedente de una fuente, que atraviesa las capas de reactivo y el soporte, hasta el detector de un fotómetro. Su segunda función consiste en esparcir la muestra formando una capa uniforme. Durante este proceso, que tarda entre 5 y 10 s, el principal movimiento del fluido es lateral hasta que penetre todo el líquido en la estructura porosa. Como consecuencia de este rápido esparcimiento lateral que no permite mucha penetración de muestra, la cantidad de fluido y de analito por unidad de área es relativamente independiente del volumen de la gota. Así pues, un 10 por 100 de variación en el tamaño de la muestra produce solamente un cambio de un 1 por 100 en la concentración de analito por unidad de área. Además, se consigue que la concentración de analito sea uniforme a lo largo de toda la mancha. La tercera función de la capa difusora consiste en retener células, cristales y partículas y también algunas moléculas grandes como proteínas.

La determinación de glucosa en sangre con esta tira es muy simple y se puede automatizar completamente. Se coloca sobre la placa una muestra de

10 µL y se mantiene en un incubador a 37(±0,05) °C durante 7 minutos. La reflectancia se mide a 495 nm con el instrumento que se describe en el apartado siguiente.

La Figura 33-16b es un esquema de una tira más compleja para la determinación de urea en suero. En este caso, las dos capas de reactivo están separadas por medio de una capa semipermeable de acetato o butirato de celulosa, que permite el paso de amoníaco pero impide el de dióxido de carbono e iones hidróxido de la capa del indicador ácido/base. En este caso, las reacciones son:



33D-3. Instrumentación

Las medidas cuantitativas de los productos de las separaciones y reacciones en tiras multicapa se basan en la fotometría de reflectancia, la potenciometría selectiva de iones y la fluorescencia.

Fotómetro de reflectancia

La Figura 33-17 es un esquema de un instrumento manual que mide la reflectancia difusa de una tira reactiva. La muestra, mientras está en el incubador, se ilumina por una radiación seleccionada de una

longitud de onda que absorba el analito, El haz de la fuente forma un ángulo de 45 grados con la tira y su detección se realiza en la dirección perpendicular a dicha tira. Esta geometría minimiza la reflexión frontal de la superficie. El diámetro de la mancha iluminada es de unos 2,5 mm. La detección se realiza con un fotomultiplicador.

En espectroscopia de reflectancia se presentan dos tipos de reflexión: especular, como la de un espejo, en la que los ángulos de incidencia y reflexión son iguales, y difusa, en la que la reflexión procede de una estructura no pulida, siendo esta última la que sirve como base de la espectroscopia de reflectancia

La reflexión difusa no es un fenómeno superficial, sino una consecuencia de interacciones como dispersión, transmisión y absorción de la radiación que se producen al iluminar el volumen de la tira. La absorción por la tira reduce la intensidad reflejada.

Los datos de reflectancia generalmente se expresan en *porcentaje de reflectancia* (%R), término análogo a porcentaje de transmitancia en espectroscopia de absorción. Por tanto,

$$\% R = \frac{I_s}{I_r} \times 100 \%$$

donde I_s es la intensidad del haz reflejado por la muestra e I_r la intensidad de un patrón de referencia, que suele ser sulfato de bario. Al igual que la transmitancia, la reflectancia disminuye de forma no lineal al aumentar la concentración de la especie absorbente. Se han desarrollado varios algoritmos para linealizar esta relación. El algoritmo específico usado depende de la reflexión característica de cada tira en particular, de la naturaleza de la iluminación y de la geometría del instrumento.

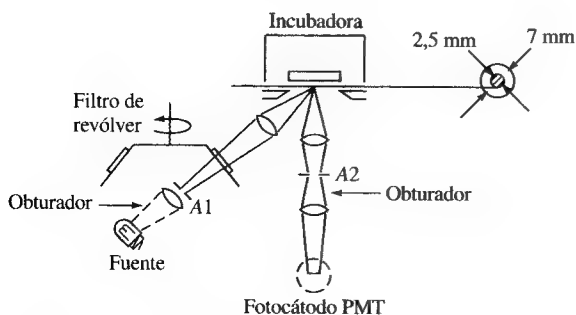


Figura 33-17. Fotómetro de reflectancia manual para tiras reactivas. (De H. G. Curme y col., Clin. Chem., 1978, 24, 1336. Con autorización.)

En la actualidad hay instrumentos de reflectancia manuales o totalmente automatizados. En estos últimos, el operador sólo tiene que suministrar la muestra y especificar las determinaciones que quiere realizar. Entonces, el instrumento elige de una cinta la tira apropiada, selecciona el filtro de radiación adecuado, calibra el instrumento, aplica la muestra e imprime el resultado. Estos instrumentos pueden llevar a cabo más de 500 determinaciones por hora de cualquiera de los 16 ensayos disponibles.

Potenciometría

La tecnología de tiras se ha ampliado dirigiéndose a la fabricación de sistemas desechables, para la realización de un único ensayo, y que contienen membranas selectivas de iones y determinan iones potasio, sodio, cloruro u otros analitos. En la Figura 33-18 se muestra un esquema de la celda utilizada para determinar ion potasio en muestras de suero. Las dimensiones del equipo son 2,8 × 2,4 cm. En este caso, se conectan dos tiras formadas por capas idénticas por medio de un puente salino de papel. En uno de los orificios se colocan unos 10 µL de muestra y en el otro 10 µL de disolución patrón. Estas disoluciones se difunden muy rápido, lateralmente, activando el puente salino. La capa superior de la tira, que es la membrana selectiva de iones, se compone de un plástico hidrófobo impregnado de valinomicina. Como ya se describió anteriormente (Apartado 23C-6) la valinomicina se une de forma muy selectiva a los iones potasio, lo que hace que se desarrolle un potencial a través de la interfase de la membrana. Las tres capas restantes de cada tira constituyen un electrodo de referencia de plata/cloruro de plata.

A diferencia de las medidas convencionales con electrodos selectivos de iones, aquí el potencial de la celda con la muestra se relaciona directamente con el de la celda que contiene el patrón. Por tanto, la concentración de potasio en el problema se obtiene a partir de la diferencia de potencial entre estas dos celdas. El comportamiento de ésta y otras celdas selectivas de iones podría ser comparable al de los sistemas convencionales de electrodos selectivos de iones.

33D-4. Funcionamiento y aplicaciones

Hoy día las distintas casas comerciales ofrecen tiras para un número de pruebas clínicas cada vez

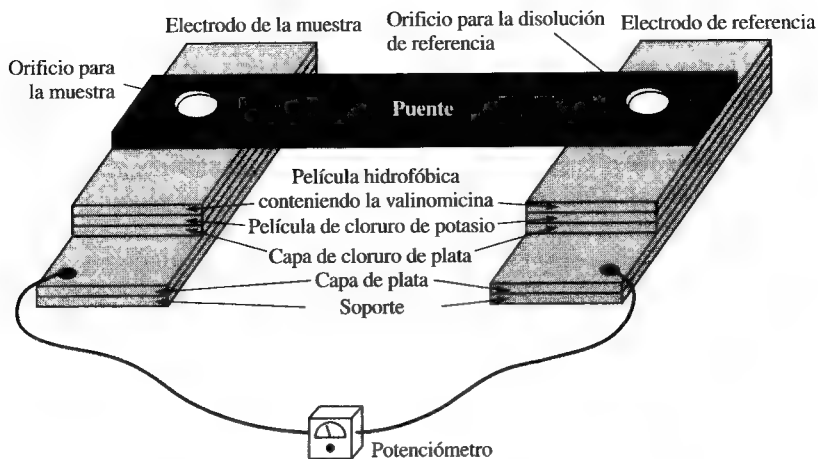


Figura 33-18. Celda de electrodos selectivos multicapa para ion potasio. Las dimensiones del dispositivo son $2,8 \times 2,4$ cm y espesor de $150 \mu\text{m}$. (Reproducido con autorización de B. Walter, *Anal Chem.*, **1983**, 55, 508A. Copyright 1983 American Chemical Society.)

mayor y el número de diferentes tipos de ensayos se considera que está en torno a unas tres docenas. En la Tabla 33-2 se indican algunas de las determinaciones más representativas que se pueden llevar a cabo con estos dispositivos. En general, el volumen de muestra es pequeño (10 a $50 \mu\text{L}$) y el tiempo para realizar un análisis completo muy breve, entre 1 y 10 minutos. Los intervalos dinámicos que se presentan en la tabla son lo suficientemente amplios como para que se puedan aplicar aproximadamente

al 98 por 100 de las muestras de un laboratorio clínico. Las muestras que están fuera de estos intervalos pueden utilizarse si se diluyen adecuadamente.

En general, las pruebas de funcionamiento indican una buena correlación entre los datos que proporcionan estos dispositivos y los resultados obtenidos por métodos de referencia. Dependiendo del tipo de ensayo, la precisión varía entre el 1 y el 10 por 100 , lo que de nuevo es comparable con los métodos de referencia automatizados.

TABLA 33-2. Características de algunas tiras reactivas*

Analito	Intervalo dinámico	Precisión, % desviación estándar relativa
Albúmina	$72,5-869 \mu\text{mol/L}$	4,9
Amoníaco	$0,01-12 \text{ mmol/L}$	5
Bilirrubina	$3,4-445 \mu\text{mol/L}$	2,5
Calcio	$0,25-4,0 \text{ mmol/L}$	1,5
Dióxido de carbono	$5-55 \text{ mmol/L}$	5-7
Cloruro	$50-175 \text{ mmol/L}$	1,5
Colesterol	$0,39-14,3 \text{ mmol/L}$	5,2
Creatinina	$4,4-1.459 \mu\text{mol/L}$	4
Glucosa	$1,1-34,7 \text{ mmol/L}$	2,1
Potasio	$1-14 \text{ mmol/L}$	2,0
Sodio	$75-250 \text{ mmol/L}$	1,3
Triglicéridos	$0-6,5 \text{ mmol/L}$	2,7
Urea	$0,7-42,8 \text{ mmol/L}$	3,3
Ácido úrico	$29,7-1.010 \mu\text{mol/L}$	2,3

* De: T. L. Shirey, *Clin. Biochem.*, **1983**, 16, 147. Con autorización.

33E. CUESTIONES Y PROBLEMAS

- 33-1.** Enumerar secuencialmente una serie de operaciones unitarias de laboratorio que puedan utilizarse para
- (a) Asegurar la presencia o ausencia de plomo en desconchados de pintura seca.
 - (b) Determinar el contenido de hierro en pastillas con múltiples vitaminas/minerales.
- 33-2.** Representar un sistema de inyección en flujo que pudiese servir para determinar Na^+ y K^+ en sangre basado en medidas de fotometría de llama.
- 33-3.** Representar un sistema de inyección en flujo que se pueda utilizar para determinar plomo en los vertidos de una planta industrial mediante la extracción de los iones plomo con una disolución de ditizona en tetracloruro de carbono, la cual reacciona con dicho ion para originar un producto intensamente coloreado.
- 33-4.** Representar un equipo de inyección en flujo para la determinación de sulfito de sodio en muestras acuosas.
- 33-5.** Representar la vista superior de la configuración del dedo de un robot, equipado con «visión» foto-eléctrica, que pudiera pinchar un vial cerrado de 2 mL.
- 33-6.** Realizar un esquema de un sistema de flujo (indicando columnas, detectores y válvulas conmutadoras) diseñado para cumplir los siguientes requisitos. Primero, el pico del disolvente debe separarse rápidamente de dos analitos que presentan mucha menos volatilidad que el disolvente. Segundo, el pico del disolvente no debería pasar por la columna analítica. Tercero, hay que separar los dos analitos, cuya polaridad es muy diferente, y finalmente determinarlos cuantitativamente.

Apéndice 1

Evaluación de los datos analíticos

En este apéndice se describen los tipos de errores que aparecen en química analítica y cómo se evalúa y presenta la magnitud de los mismos. La estimación de la probable exactitud de los resultados es una parte vital en cualquier análisis, ya que los datos cuya fiabilidad es desconocida son esencialmente inútiles.

a1A. PRECISIÓN

Existen dos términos que se utilizan generalmente en las discusiones sobre la fiabilidad de los datos, *precisión* y *exactitud*.

a1A-1. Precisión

La precisión describe la reproducibilidad de los resultados; es decir, la concordancia entre los valores numéricos de dos o más medidas replicadas o medidas que se han realizado *exactamente de la misma forma*. En general, la precisión de un método analítico se obtiene fácilmente mediante la simple repetición de la medida.

Habitualmente se utilizan tres términos para describir la precisión de un conjunto de datos de

replicados que incluyen *la desviación estándar*, *la varianza* y *el coeficiente de variación*. Estos términos tienen importancia estadística y se definen en el Apartado a1B-1.

a1A-2. Exactitud

La exactitud describe si el resultado experimental es el correcto. Estrictamente hablando, el único tipo de medida que puede ser completamente exacto es aquel que consiste en el recuento de objetos. Todos los demás tipos de medidas contienen errores y aportan sólo una aproximación del valor verdadero.

La exactitud es un término relativo, en el sentido de que un método es exacto o inexacto dependiendo en gran medida de las necesidades del científico y de las dificultades del problema analítico. Por ejemplo, un método analítico con el cual se obtienen resultados que se encuentran comprendidos entre ± 10 por 100, o una parte por billón, de la cantidad correcta de mercurio presente en una muestra de tejido de pescado que contiene 10 partes por billón del metal se consideraría de una exactitud razonable. Por el contrario, un procedimiento con el que se obtienen resultados comprendidos entre ± 10 por 100 de la cantidad correcta de

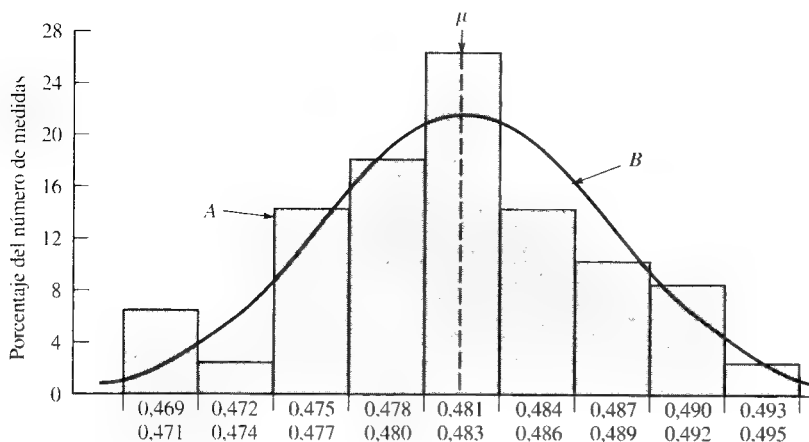


Figura a1-1. A, histograma que muestra la distribución de los 50 resultados que aparecen en la Tabla a1-1. B, curva gaussiana correspondiente a unos datos que tienen la misma media y la misma desviación estándar que los datos mostrados en A.

mercurio presente en un mineral que contiene el 20 por 100 del metal, normalmente se juzgaría como inaceptable por inexacto.

La exactitud se expresa en términos de errores absolutos y relativos. El *error absoluto* E_a de la media (o promedio) $\bar{x}$ del análisis de un pequeño conjunto de replicados se expresa mediante la relación

$$E_a = \bar{x} - x_i \quad (\text{a1-1})$$

donde x_i es el valor aceptado (como verdadero) de la cantidad medida. Con frecuencia, es útil expresar la exactitud en términos de *error relativo*, donde

$$\text{error relativo} = \frac{\bar{x} - x_i}{x_i} \times 100\% \quad (\text{a1-2})$$

Como se ve, es habitual expresar el error relativo como un porcentaje (%); en otros casos, el cociente se multiplica por 1.000 para dar el error en tanto por mil (‰).

Obsérvese que ambos errores, absoluto y relativo, llevan un signo positivo para indicar que el resultado medido es mayor que el valor verdadero y un signo negativo en el caso contrario.

Nosotros nos encontraremos con dos tipos de errores, *errores aleatorios o indeterminados* y *errores sistemáticos o determinados*¹. El error en

la media de un conjunto de replicados es la suma de estos dos tipos de errores:

$$E_a = E_r + E_s \quad (\text{a1-3})$$

donde E_r es el error aleatorio asociado con la medida y E_s es el error sistemático.

Errores aleatorios

Siempre que en una misma muestra se repiten las medidas analíticas, se obtiene una dispersión de los datos similar a la que se muestra en la Tabla a1-1, debido a la presencia de errores aleatorios o indeterminados, dicho de otra forma, la presencia de errores aleatorios se refleja en la imprecisión de los datos. Los datos de las columnas 2, 4 y 6 de la tabla son las absorbancias (Apartado 12A), obtenidas con un espectrofotómetro, de 50 replicados de disoluciones de color rojo producidas al tratar muestras acuosas idénticas que contienen 10 ppm de Fe(III) con un exceso de ion tiocianato. Las absorbancias medidas son directamente proporcionales a la concentración de hierro.

La distribución de los errores aleatorios de estos datos se comprende mejor si éstos se organizan en grupos de datos contiguos, de igual tamaño, o *celdas*, como se muestra en la Tabla a1-2. La frecuencia relativa de la aparición de los datos en cada celda se representa en la Figura a1-1A dando un diagrama de barras llamado *histograma*.

¹ Un tercer tipo de error, que se encuentra en ocasiones, son los *errores gruesos*, los cuales surgen en la mayoría de los casos por la falta de cuidado, ineptitud, indolencia o mala suerte del experimentador. Algunas causas típicas de estos errores incluyen: transposiciones de números al escribir los datos; pérdidas

de muestra, utilización equivocada de la escala del medidor, introducción accidental de contaminantes y cambios de signo al leer los instrumentos. Un error grueso de un conjunto de medidas repetidas aparecerá como un resultado *discordante*, un dato que es muy diferente del resto del conjunto. En esta discusión no se considerarán los errores gruesos.

TABLA a1-1. Replicados de medidas de absorbancia^a

Prueba	Absorbancia, A	Prueba	Absorbancia, A	Prueba	Absorbancia, A
1	0,488	18	0,475	35	0,476
2	0,480	19	0,480	36	0,490
3	0,486	20	0,494 ^b	37	0,488
4	0,473	21	0,492	38	0,471
5	0,475	22	0,484	39	0,486
6	0,482	23	0,481	40	0,478
7	0,486	24	0,487	41	0,486
8	0,482	25	0,478	42	0,482
9	0,481	26	0,483	43	0,477
10	0,490	27	0,482	44	0,477
11	0,480	28	0,491	45	0,486
12	0,489	29	0,481	46	0,478
13	0,478	30	0,469 ^c	47	0,483
14	0,471	31	0,485	48	0,480
15	0,482	32	0,477	49	0,483
16	0,483	33	0,476	50	0,479
17	0,488	34	0,483		

Absorbancia media = 0,482
Desviación estándar = 0,0056

^a Datos listados en el orden obtenido.^b Valor máximo.^c Valor mínimo.

Es razonable suponer que si el número de análisis fuera mucho mayor que el mostrado en la Tabla a1-2 y si el tamaño de cada celda fuese mucho más pequeño, obtendríamos una curva lisa, sin escalones, tal como la que se muestra en la Figura a1-1B. Una curva de este tipo se llama *curva gaussiana*, o *curva normal de error*. Se ha encontrado empíricamente que los resultados de análisis químicos replicados se distribuyen con frecuencia de una forma próxima a la gaussiana, o normal.

La frecuencia de distribución que presenta una curva gaussiana tiene las siguientes características:

1. El resultado que se observa con mayor frecuencia es la media μ del conjunto de los datos.
2. Los resultados se agrupan de forma simétrica alrededor del valor medio.
3. Es más frecuente encontrar pequeñas divergencias respecto al valor medio central que grandes divergencias.
4. En ausencia de errores sistemáticos, la media de un conjunto de datos grande se aproxima al valor verdadero.

La cuarta característica significa que, en principio, es siempre posible reducir el error aleatorio de un análisis a un valor próximo a cero. Sin embargo, en raras ocasiones es práctico alcanzar esta meta,

desafortunadamente, ya que para conseguirlo es necesario analizar 20 o más replicados. Normalmente, el científico sólo tiene tiempo para realizar dos o tres replicados, y con un número tan pequeño de replicados es de esperar un error aleatorio significativo en la media.

Los estadísticos normalmente utilizan μ para representar la media de una colección infinita de datos (véase Fig. a1-1B) y $\bar{x}$ para la media de un conjunto pequeño de replicados. El error aleatorio E_r de la media para un conjunto pequeño viene dado por

$$E_r = \bar{x} - \mu \quad (\text{a1-4})$$

La media para un conjunto finito de datos se acerca rápidamente a la media verdadera cuando el número de medidas N aumenta por encima de 20 o 30. Así, como se muestra en el ejemplo siguiente, a veces se puede determinar el error aleatorio en un dato individual o en la media de un conjunto pequeño de datos.

EJEMPLO a1-1

Calcular el error aleatorio para (a) el segundo dato de la Tabla a1-1 y (b) la media de las tres primeras entradas de la misma tabla.

TABLA a1-2. Distribución de frecuencias de los datos que aparecen en la Tabla a1-1

Intervalo de absorbancia A	Número de medidas dentro del intervalo y	Frecuencia relativa, y/N^a
0,469 a 0,471	3	0,06
0,472 a 0,474	1	0,02
0,475 a 0,477	7	0,14
0,478 a 0,480	9	0,18
0,481 a 0,483	13	0,26
0,484 a 0,486	7	0,14
0,487 a 0,489	5	0,10
0,490 a 0,492	4	0,08
0,493 a 0,495	1	0,02

^a N = número total de medidas = 50.

La media para el conjunto completo de datos es 0,482 y, como ésta es la media de 50 medidas, se puede asumir que el error aleatorio de dicha media es aproximadamente cero. Así, puede tomarse como valor límite μ 0,482.

- (a) Aquí, el error aleatorio para una sola medida x_2 es

$$E_r = x_2 - \mu = 0,480 - 0,482 = -0,002$$

- (b) La media $\bar{x}$ para las tres primeras entradas de la tabla es

$$\bar{x} = \frac{0,488 + 0,480 + 0,486}{3} = 0,485$$

Sustituyendo en la Ecuación a1-4, da

$$E_r = \bar{x} - \mu = 0,485 - 0,482 = +0,003$$

La naturaleza aleatoria de los errores indeterminados hace posible tratarlos por métodos estadísticos. Las técnicas estadísticas se consideran en el Apartado a1B.

Errores sistemáticos. Sesgo

Los errores sistemáticos tienen un valor definido, tienen una causa asignable y son del mismo signo y magnitud para todos aquellos replicados que se analizan de la misma forma. Los errores sistemáticos llevan a un *sesgo* en la técnica de medida. El sesgo se ilustra mediante dos curvas en la Figura a1-2, que muestra la distribución de frecuencias de los resultados de los replicados en el análisis de

muestras idénticas por dos métodos que tienen errores aleatorios de idéntico tamaño. El método A no tiene sesgo, por tanto, la media límite es el valor verdadero x_i , el método B tiene un sesgo que viene dado por

$$\text{sesgo} = \mu_B - x_i = \mu_B - \mu_A \quad (\text{a1-5})$$

Obsérvese que el sesgo afecta a todos los datos del conjunto y que lleva signo.

Los errores sistemáticos son de tres tipos: *instrumentales*, *personales* y *del método*.

Errores instrumentales. Las fuentes típicas de errores instrumentales incluyen la deriva en los circuitos eléctricos, las fugas en los sistemas de vacío, los efectos de la temperatura en los detectores, las corrientes inducidas en los circuitos de las líneas de corriente de 110 V, el descenso de la tensión en los bornes de las baterías con el uso y los errores de calibración en los medidores, pesas y equipos volumétricos.

Normalmente, los errores instrumentales sistemáticos se detectan y se corrigen mediante la calibración con patrones adecuados. Siempre es deseable una calibración periódica de los instrumentos porque la respuesta de la mayoría de los instrumentos cambia con el tiempo como consecuencia del uso, corrosión o trato inadecuado.

Errores personales. Los errores personales son aquellos que se introducen en una medida como consecuencia de los criterios que debe adoptar el analista. Como ejemplos se incluyen la estimación de la posición de un indicador entre dos divisiones de la escala, el color de una disolución en el punto

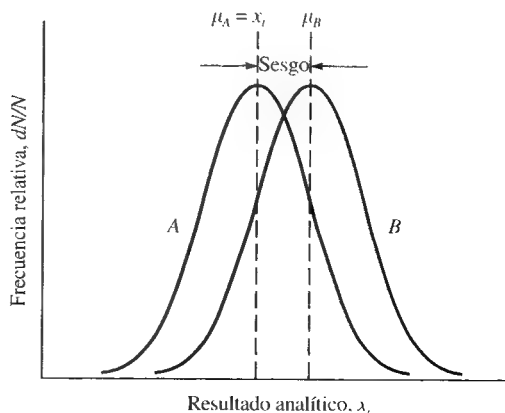


Figura a1-2. Ilustración del sesgo = $\mu_B - \mu_A = \mu_B - x_i$.

final de una valoración, el nivel de líquido respecto a la graduación en una pipeta o la intensidad relativa de dos haces de luz. Las decisiones de este tipo están, a menudo, sujetas a incertidumbres sistemáticas, unidireccionales. Por ejemplo, una persona puede leer un indicador alto de forma persistente, otra puede ser ligeramente lenta al activar el cronómetro y una tercera puede ser menos sensible al color. La ceguera al color u otros impedimentos físicos suelen agravar determinados errores personales.

El sesgo numérico es otra fuente de error sistemático personal que aparece a menudo y varía considerablemente de una persona a otra. El sesgo encontrado con mayor frecuencia al estimar la posición de la aguja en una escala es una preferencia por los dígitos 0 y 5. También es corriente la preferencia por los dígitos pequeños en lugar de los grandes e incluso de los pares sobre los impares.

Una fuente de error personal casi universal es el prejuicio. Muchos de nosotros, independiente de nuestra honestidad, tenemos una tendencia natural a estimar la lectura de la escala en la dirección que mejora la precisión del conjunto de resultados o en la que hace que el resultado sea próximo a una noción preconcebida del valor verdadero para la medida.

Gran parte de los errores personales pueden minimizarse poniendo cuidado y autodisciplina. Así, la mayoría de los científicos desarrollan el hábito de comprobar sistemáticamente por duplicado las lecturas de los instrumentos, las anotaciones en el cuaderno de notas y los cálculos. Los robots, los sistemas automatizados, la recogida de datos informatizada y el control de los instrumentos por ordenadores tienen la posibilidad de minimizar o eliminar los errores sistemáticos de tipo personal.

Errores de método. Los errores de método a menudo aparecen como consecuencia del comportamiento químico o físico no ideal de los reactivos y de las reacciones en las que se basa un análisis. Como posibles fuentes se incluyen las reacciones lentas o incompletas, las pérdidas por volatilidad, la adsorción del analito sobre sólidos, la inestabilidad de los reactivos, contaminantes e interferencias químicas.

Los errores sistemáticos de método son, generalmente, más difíciles de detectar y de corregir que los errores instrumentales y personales. La mejor forma y la más segura requiere la *validación* del método utilizado en el análisis de materiales de referencia que se parezcan a las muestras a analizar, tanto en su estado físico como en su composición química. Es

obvio que las concentraciones de los analitos de estos patrones deben conocerse con un alto grado de certeza. Para materiales sencillos, a veces los patrones se pueden preparar mezclando cantidades de compuestos puros medidas cuidadosamente. Desafortunadamente, los materiales a analizar suelen ser lo suficientemente complejos como para descartar esta sencilla solución.

El Instituto Nacional de Estándares y Tecnología², pone a la venta una variedad de *materiales de referencia certificados* (SRMs) que se han preparado específicamente para la validación de métodos analíticos³. La concentración de uno o más de los componentes de estos materiales se ha determinado por (1) un método de referencia previamente validado, (2) dos o más métodos de medida fiables e independientes, o (3) el análisis por una red de laboratorios de cooperación, técnicamente competentes y muy familiarizados con el material a examinar. La mayoría de los materiales de referencia certificados son sustancias que se encuentran por lo común en el comercio o en estudios medioambientales, de contaminación, clínicos, biológicos o forenses. Algunos ejemplos incluyen elementos traza en carbón, combustibles, partículas de material urbano, sedimentos de estuarios y aguas; plomo en muestras de sangre; colesterol en suero humano; drogas de abuso en orina; y una gran variedad de elementos en rocas, minerales y vidrios. Además, varias casas comerciales suministradoras ofrecen ahora una variedad de materiales analizados para la verificación del método⁴.

a1B. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS ERRORES ALEATORIOS

Los datos, aleatoriamente distribuidos, del tipo descrito en el apartado titulado Errores aleatorios se ana-

² En 1989, el nombre de National Bureau of Standards (NBS) se cambió por el de National Institute of Standards and Technology (NIST). Todavía hoy, varias de las publicaciones del NIST llevan el antiguo nombre de NBS. Es posible disponer de información sobre el NIST, sus productos y sus servicios en el World Wide Web en <http://nvl.nist.gov/>.

³ Véase U.S. Department of Commerce, *NIST Standard Reference Materials Catalog* 1995-96, NIST Special Publication 260. Washington, DC: Government Printing Office, 1995. La versión actual del catálogo está disponible en el lugar del World Wide Web mencionado en el pie de página número 2. Para una descripción del programa de materiales de referencia del NIST, véase R. A. Álvarez, S. D. Rasberry y G. A. Uriano, *Anal. Chem.*, **1982**, 54, 1226A; y G. A. Uriano, *ASTM Standardization News*, **1979**, 7, 8.

⁴ Véase C. Veillon, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 851A.

lizan convenientemente mediante técnicas estadísticas, que se consideran en los próximos apartados⁵.

a1B-1. Poblaciones y muestras

En el tratamiento estadístico de datos se asume que el grupo de resultados experimentales obtenidos en el laboratorio es una fracción diminuta del número infinito de resultados que podrían obtenerse, en principio, si se dispusiera de un tiempo infinito y de una cantidad de muestra infinita. Los estadísticos llaman a este grupo de datos una *muestra* y la consideran como un subconjunto de una *población* infinita, o *universo*. Las leyes estadísticas sólo se pueden aplicar estrictamente a poblaciones; cuando estas leyes se aplican a una muestra de datos de laboratorio, se tiene que asumir que la muestra es verdaderamente representativa de la población. Como no hay seguridad de que esta suposición sea válida, las afirmaciones acerca de los errores aleatorios son necesariamente inciertas y deben expresarse en términos de probabilidades.

Definiciones de algunos términos estadísticos

Media de la población (μ). La *media de la población* o *media límite*, de un conjunto de replicados se define mediante la ecuación

$$\mu = \lim_{N \rightarrow \infty} \frac{\sum_{i=0}^N x_i}{N} \quad (\text{a1-6})$$

donde x_i representa el valor de la i -ésima medida. Como indica esta ecuación, la media de un conjunto de medidas se aproxima a la media de la población cuando N , el número de medidas, tiende a infinito. Es importante añadir que en ausencia de sesgo, μ es el valor verdadero de la cantidad medida.

Desviación estándar de la población (σ) y varianza de la población (σ^2). La desviación estándar de una población y la varianza de la población proporcionan medidas estadísticamente significativas de la precisión de los datos de una

población. La desviación estándar de la población viene dada por la ecuación

$$\sigma = \sqrt{\lim_{N \rightarrow \infty} \frac{\sum_{i=0}^N (x_i - \mu)^2}{N}} \quad (\text{a1-7})$$

donde x_i representa, de nuevo, el valor de la i -ésima medida. Obsérvese que la desviación estándar de la población es la raíz cuadrática media de las *desviaciones individuales respecto de la media*, para la población.

Los estadísticos prefieren expresar la precisión de los datos en términos de *varianza*, que es simplemente el cuadrado de la desviación estándar (σ^2), porque las varianzas son aditivas. Es decir, si en un sistema hay n fuentes independientes de error aleatorio, entonces la varianza total σ_t^2 vendrá dada por la relación

$$\sigma_t^2 = \sigma_1^2 + \sigma_2^2 + \dots + \sigma_n^2 \quad (\text{a1-8})$$

donde $\sigma_1^2, \sigma_2^2, \dots, \sigma_n^2$ son las varianzas individuales de cada fuente de error.

Los químicos, generalmente prefieren describir la precisión de las medidas en términos de desviación estándar en lugar de varianza porque la desviación estándar tiene las mismas unidades que la propia medida.

Media de la muestra ($\bar{x}$). La *media de la muestra* es la media o promedio de un conjunto finito de datos. Como N , en este caso, es un número finito, $\bar{x}$ difiere, con frecuencia, de la media de la población μ , y, como consecuencia, difiere del verdadero valor de la cantidad medida. El uso de un símbolo diferente para la media de la muestra enfatiza esta importante distinción.

Desviación estándar de la muestra (s) y varianza de la muestra (s^2). La *desviación estándar* (s) para una muestra de datos de tamaño limitado viene dada por la ecuación

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}} \quad (\text{a1-9})$$

Obsérvese que la desviación estándar de la muestra difiere en tres aspectos de la desviación

⁵ Para un tratamiento estadístico más detallado, véase R. Calcutt y R. Boddy, *Statistics for Analytical Chemistry*. New York: Chapman y Hall, 1983; J. Mandel, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.^a ed., I. M. Kolthoff y P. J. Elving, Eds., Parte I, Vol. 1, Capítulo 5. New York: Wiley, 1978; R. L. Anderson, *Practical Statistics for Analytical Chemistry*, New York: Van Nostrand Reinhold, 1987.

estándar de la población, como se definió en la Ecuación a1-7. Primero, σ se ha reemplazado por s , con el objetivo de enfatizar la diferencia entre los dos términos. Segundo, la media verdadera μ , se ha reemplazado por $\bar{x}$, la media de la muestra. Finalmente, en el denominador aparece $(N - 1)$ que se define como el *número de grados de libertad*, en lugar de N^6 .

Desviación estándar relativa (RSD) y coeficiente de variación (CV). Las desviaciones estándar relativas, suelen proporcionar más información que las desviaciones estándar absolutas. La desviación estándar relativa de los datos de una muestra viene dada por

$$\text{RSD} = \frac{s}{\bar{x}} \times 10^z \quad (\text{a1-10})$$

Cuando $z = 2$, la desviación estándar relativa se expresa en porcentaje (%); cuando es igual a 3, la desviación se da en tanto por mil (‰). La desviación estándar relativa, expresada como un porcentaje, también se conoce como el *coeficiente de variación (CV)* de los datos. Es decir,

$$\text{CV} = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \% \quad (\text{a1-11})$$

En lo que concierne con una población de datos, en las Ecuación a1-10 y a1-11, se usan σ y μ en lugar de s y $\bar{x}$.

Una vía alternativa para el cálculo de las desviaciones estándar de la muestra. Al calcular s con una calculadora de bolsillo que no tenga la función desviación estándar, es algo más conveniente usar la siguiente expresión, idéntica a la Ecuación a1-9:

$$s = \sqrt{\frac{\sum x_i^2 - (\sum x_i)^2/N}{N - 1}} \quad (\text{a1-12})$$

⁶ Por definición, el número de grados de libertad es el número de datos que se mantienen independientes cuando se evalúa s . La desviación estándar de un conjunto de datos experimentales se calcula basándose en $(N - 1)$ grados de libertad, ya que en el cálculo se usa la media $\bar{x}$. Al sustituir la media y cualquier subconjunto de $(N - 1)$ datos en la ecuación algebraica de la media, puede calcularse el valor numérico del dato excluido. El hecho de que el valor numérico de cualquier dato puntual pueda calcularse a partir de los restantes y de la media, indica que siempre que se use la media en el cálculo posterior de cualquier parámetro estadístico se pierde un grado de libertad.

EJEMPLO a1-2

Los siguientes replicados se obtuvieron para la concentración de SO_2 en el aire próximo a una fábrica de papel: 1,96; 1,91; 1,88 y 1,94 partes por millón (ppm). Calcular (a) la media, (b) la desviación estándar absoluta, y (c) el coeficiente de variación de los datos.

ppm SO_2		
	x_i	x_i^2
x_1	1,96	3,8416
x_2	1,91	3,6481
x_3	1,88	3,5344
x_4	1,94	3,7636
	$\sum x_i = 7,69$	$\sum x_i^2 = 14,7877$

(a) $\bar{x} = 7,69/4 = 1,9255 = 1,92$ ppm SO_2

(b) Aplicando la Ecuación a1-12, se obtiene

$$\begin{aligned} s &= \sqrt{\frac{14,7877 - (7,69)^2/4}{4 - 1}} \\ &= \sqrt{\frac{14,7877 - 14,784025}{3}} \\ &= \sqrt{\frac{0,003675}{3}} = 0,035 \text{ ppm } \text{SO}_2 \end{aligned}$$

(c) $\text{CV} = \frac{0,035 \text{ ppm}}{1,92 \text{ ppm}} \times 100 \% = 1,8 \%$

Obsérvese que la diferencia entre $\sum x_i^2$ y $(\sum x_i)^2/N$ en el ejemplo a1-2 es tan pequeña que un redondeo prematuro nos habría llevado a cometer un serio error en el cálculo del valor de s . Debido a esta fuente de error, la Ecuación a1-12 no debería usarse nunca para calcular la desviación estándar de números que contienen cinco o más dígitos, en estos casos debería usarse la Ecuación a1-9. Es importante también advertir que las calculadoras de bolsillo y los pequeños ordenadores que tienen la función desviación estándar, generalmente usan para su cálculo una versión de la Ecuación a1-12. Como consecuencia, hay que esperar

grandes errores en el cálculo de s cuando estos aparatos se aplican a datos con cinco o más cifras significativas⁷.

La ley normal de error

En estadística gaussiana, se asume que los resultados de replicados en los que aparecen errores indeterminados se distribuyen de acuerdo con la *ley normal de error*, que establece que la fracción de una población de observaciones dN/N , cuyos valores se encuentran dentro de la región x a $(x + dx)$ viene dada por

$$\frac{dN}{N} = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-(x-\mu)^2/2\sigma^2} dx \quad (\text{a1-13})$$

Aquí, μ y σ son la media y la desviación estándar de la población, y N es el número de observaciones. Las dos curvas que se muestran en la Figura a1-3a son representaciones gráficas de la Ecuación a1-13. La desviación estándar de los datos representados en la curva B es dos veces la de los datos representados en la curva A .

Obsérvese que $(x - \mu)$ en la Ecuación a1-13 es la *desviación absoluta de los valores individuales de x frente a la media* en las unidades utilizadas en la medida. Sin embargo, es más conveniente expresar las desviaciones de la media en unidades de desviación estándar z , donde

$$z = (x - \mu)/\sigma \quad (\text{a1-14})$$

Derivando esta ecuación con respecto a x , da

$$dz = dx/\sigma \quad (\text{a1-15})$$

La sustitución de estas dos relaciones en la Ecuación a1-13 nos lleva a una ecuación que expresa la distribución en términos de una única variable z . Es decir,

$$\frac{dN}{N} = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-z^2/2} dz \quad (\text{a1-16})$$

Esta expresión se puede convertir en intervalos finitos mediante la integración entre N_1 y N_2 como se muestra en el apartado siguiente.

La curva normal de error

La Figura a1-3b muestra otra forma de representar gráficamente los datos de las dos curvas de la Figura a1-3a. Ahora la abscisa es z , las desviaciones frente a la media de los datos en desviación estándar como unidad (Ecuación a1-14). Este tipo de representación produce una única curva independientemente de la magnitud de la desviación estándar de los datos. Las propiedades generales de esta curva son: (1) la desviación cero frente a la media es la que aparece con la máxima frecuencia, (2) la distribución simétrica de las desviaciones po-

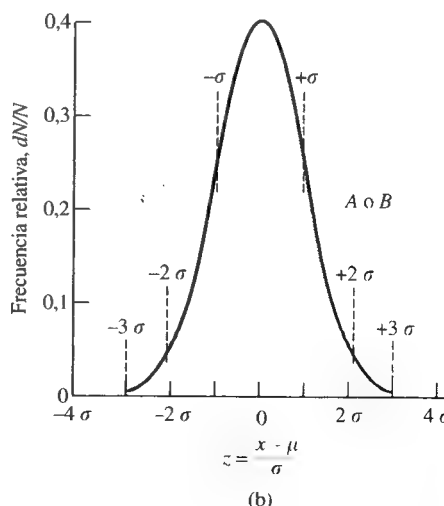
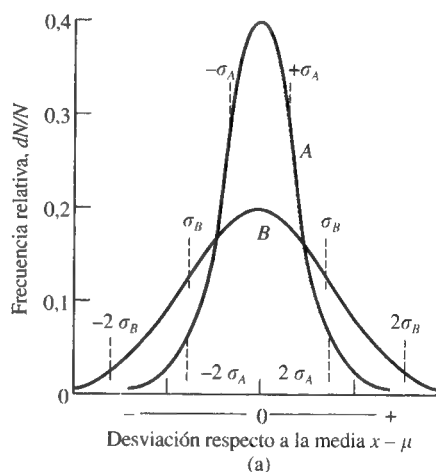


Figura a1-3. Curvas normales de error. En el caso B la desviación estándar es el doble que en el caso A ; es decir, $\sigma_B = 2\sigma_A$. (a) La abscisa es la desviación respecto a la media en las unidades de la medida. (b) La abscisa es la desviación respecto a la media en unidades σ . Por ello, A y B dan lugar a curvas idénticas.

⁷ Véase H. E. Solberg, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 1661; P. M. Wanek, y col., *Anal. Chem.*, **1982**, 54, 1877.

sitivas y negativas alrededor de este máximo, y (3) el descenso exponencial en la frecuencia cuando la magnitud de las desviaciones aumenta. Por tanto, los errores aleatorios pequeños son mucho más comunes que los errores grandes.

Áreas limitadas bajo la curva normal de error. El área bajo la curva en la Figura a1-3 es la integral de la Ecuación a1-16 y se determina como sigue:

$$\frac{\Delta N}{N} = \int_{-a}^a \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-z^2/2} dz = \operatorname{erf}\left(\frac{a\sqrt{2}}{2}\right)$$

donde $\operatorname{erf}(b)$ es la llamada *función de error*, que viene dada por

$$\operatorname{erf}(b) = \int_0^b \frac{2}{\sqrt{\pi}} e^{-x^2} dx$$

La fracción de la población comprendida entre unos límites especificados cualesquiera viene dada por el área bajo la curva entre estos límites. Por ejemplo, el área bajo la curva entre $z = -1$ y $z = +1$ viene dada por la integral definida

$$\frac{\Delta N}{N} = \int_{-1}^1 \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-z^2/2} dz = \operatorname{erf}\left(\frac{\sqrt{2}}{2}\right) = 0,683$$

Así, el 0,683 o el 68,3 por 100 del total del área bajo la curva se encuentra entre $\pm 1\sigma$ de la media. Es decir, $\Delta N/N = 0,683$, significa que el 68,3 por 100 de la población de datos se encuentran entre $\pm 1\sigma$ de su valor medio. Calculando de forma similar con $z = 2$ y $z = 3$, se encuentra que el 95,5 por 100 de los datos se encuentra entre $\pm 2\sigma$ y el 99,7 por 100 entre $\pm 3\sigma$. Los valores de $(x - \mu)$ correspondientes a $\pm 1\sigma$, $\pm 2\sigma$ y $\pm 3\sigma$ se indican en la Figura a1-3 con líneas verticales discontinuas.

Las propiedades de la curva normal de error son útiles porque permiten establecer ciertas conclusiones acerca de la probable magnitud del error aleatorio neto en una medida o en un conjunto de medidas *siempre que se conozca la desviación estándar*. Así, puede afirmarse que hay una probabilidad de 68,3 sobre 100 de que el error aleatorio asociado a una única medida sea menor que $\pm 1\sigma$, que hay una probabilidad de 95,5 sobre 100 de que el error sea menor de $\pm 2\sigma$, y así sucesivamente. Sin lugar a dudas, la desviación estándar es un parámetro útil para estimar e indicar el error aleatorio neto probable de un método analítico.

Error estándar de la media. Las cifras de la distribución en porcentaje que se acaban de citar se refieren al error probable de una *única* medida. Si de una población de datos se toman aleatoriamente un conjunto de muestras, que contiene N datos cada una, a medida que N aumenta, las medias de las muestras mostrarán menor dispersión. La desviación estándar de las medias de las muestras se conoce como el *error estándar* de la media y se representa con el símbolo s_m . Puede demostrarse que el error estándar es inversamente proporcional a la raíz cuadrada del número de datos utilizados para calcular las medias. Es decir,

$$s_m = s/\sqrt{N} \quad (\text{a1-17})$$

La media y la desviación estándar para un conjunto de datos son parámetros estadísticos de capital importancia en todos los tipos de ciencias e ingenierías. La media es importante porque, generalmente, proporciona la mejor estimación de la variable de interés. La desviación estándar de la media es igualmente importante porque proporciona información sobre la precisión y por consiguiente sobre el error aleatorio asociado con la medida.

Método para obtener una buena aproximación de σ

Con el objeto de aplicar directamente una relación estadística a muestras finitas de datos es necesario saber que la desviación estándar s para los datos de la muestra es una buena aproximación de la desviación estándar de la población σ . Por otra parte, las inferencias estadísticas deben modificarse para tener en cuenta la incertidumbre en s . En este apartado, se consideran métodos para obtener valores fiables de s a partir de pequeñas muestras de datos experimentales.

Realización de experimentos preliminares. La incertidumbre en el valor de s calculado disminuye cuando el número de medidas N , en la Ecuación a1-9 aumenta. La Figura a1-4 muestra el error relativo de s en función de N . Obsérvese que cuando N es mayor que aproximadamente 20, puede asumirse que s y σ , en la mayoría de los casos, son idénticas. Así, cuando un método de medida no requiere excesivo tiempo y cuando se dispone de una cantidad de muestra adecuada, a veces es factible y económico realizar experimentos preliminares cuyo único objetivo es obtener una desviación estándar fiable para el método.

$$s_{\text{ponderada}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N_1} (x_i - \bar{x}_1)^2 + \sum_{j=1}^{N_2} (x_j - \bar{x}_2)^2 + \sum_{k=1}^{N_3} (x_k - \bar{x}_3)^2 + \cdots + \sum_{p=1}^{N_{n_i}} (x_p - \bar{x}_{n_i})^2}{N_1 + N_2 + N_3 + \cdots - n_i}}$$

Ponderación de datos. Para los análisis que necesitan de mucho tiempo, el procedimiento anterior rara vez es práctico. En esos casos, sin embargo, la precisión de los datos procedentes de una serie de muestras similares acumuladas a lo largo del tiempo pueden ponderarse para proporcionar una estimación de s que es superior al valor de cada subconjunto individual. De nuevo, hay que asumir que las mismas fuentes de errores aleatorios están presentes en todas las muestras. Esta premisa es generalmente válida, con tal de que las muestras tengan una composición similar y hayan sido analizadas exactamente de la misma forma. Para obtener una estimación ponderada de s , las desviaciones de la media de cada subconjunto se elevan al cuadrado; se suman los cuadrados de todos los subconjuntos y se dividen por el número apropiado de grados de libertad. La desviación estándar ponderada $s_{\text{ponderada}}$ se obtiene al hacer la raíz cuadrada del cociente. Se pierde un grado de libertad al calcular la media de cada uno de los n_i subconjuntos. Así, el número de grados de libertad para la s ponderada es igual al número total de medidas menos n_i como se muestra en la ecuación situada en la parte superior de esta página donde i , j , k y p son los índices de cada subconjunto de datos. $N_1, N_2, N_3 \dots N_{n_i}$ representan el número de datos de cada subconjunto y n_i es el número de subconjuntos. El Ejemplo a1-3 muestra este tipo de cálculos.

Obsérvese que en el Ejemplo a1-3 se pierde un grado de libertad en cada una de las siete muestras. Como el número de grados de libertad que queda es mayor que 20, sin embargo, la s estimada puede considerarse una buena aproximación de σ ; es decir, se puede asumir que $s \rightarrow \sigma$.

a1B-2. Límites de confianza (LC)

La media de la población (μ) o media verdadera de un conjunto de medidas es una constante que siempre será desconocida. Sin embargo, en ausencia de errores sistemáticos, se pueden fijar unos límites dentro de los cuales cabe esperar que se encuentre la media de la población con un grado de probabilidad dado. Los límites obtenidos de esta forma se denominan *límites de confianza*.

Los límites de confianza, que se calculan a partir de la desviación estándar de la muestra, dependen de la certeza con que se conoce s . Si hay razones para creer que s es una buena aproximación de σ , los límites de confianza serán significativamente más estrechos que si la estimación de s se ha obtenido con sólo dos o tres medidas.

Límites de confianza cuando s es una buena aproximación de σ

La Figura a1-5 es un conjunto de curvas normales de error en las cuales la abscisa es la cantidad z que

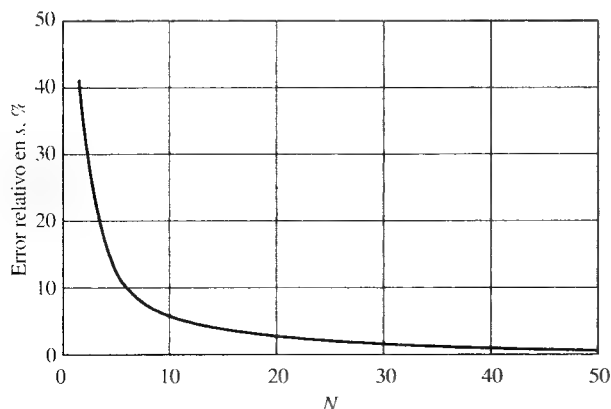


Figura a1-4. Error relativo de s en función de N .

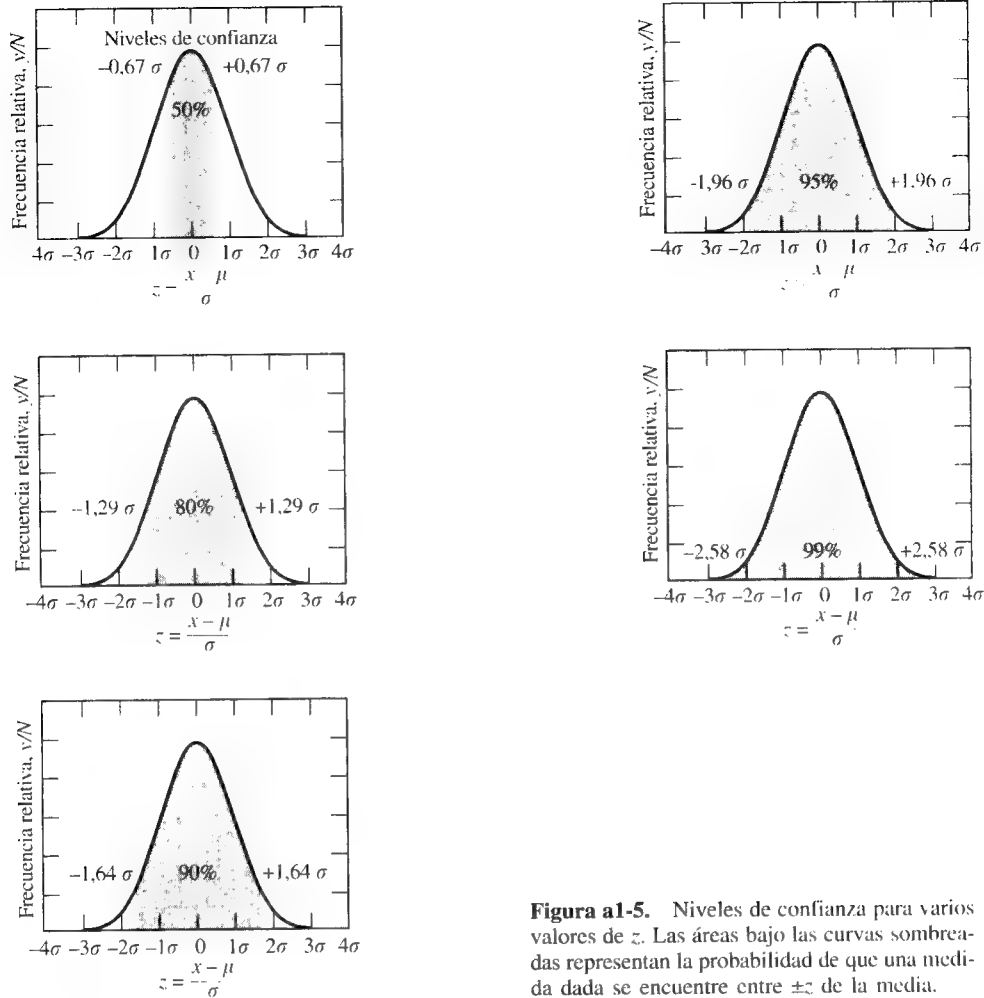


Figura a1-5. Niveles de confianza para varios valores de z . Las áreas bajo las curvas sombreadas representan la probabilidad de que una medida dada se encuentre entre $\pm z$ de la media.

representa la desviación de la media en unidades de desviación estándar de la población (Ecuación a1-14). El número que aparece en el centro de cada curva señala el porcentaje del área total bajo la curva que está comprendido entre los valores indicados de $-z$ y $+z$. Por ejemplo, el 50 por 100 del área bajo cualquier curva Gaussiana se encuentra entre $-0,67\sigma$ y $+0,67\sigma$; el 80 por 100 del área se encuentra entre $-1,29\sigma$ y $+1,29\sigma$. A partir de los últimos límites, se puede afirmar, con un 80 por 100 de probabilidad de no cometer error, que la media de la población se encuentra entre $\pm 1,29\sigma$ de cualquier medida que se realice. Aquí, el *nivel de confianza* es el 80 por 100 y el *intervalo de confianza* es $\pm z\sigma = \pm 1,29\sigma$. Una afirmación general para el

límite de confianza (LC) de una única medida se obtiene al reorganizar la Ecuación a1-14, recordando que z puede tomar valores positivos o negativos. Así,

$$\text{LC para } \mu = x \pm z\sigma \quad (\text{a1-18})$$

La Ecuación a1-18 se aplica al resultado de una única medida. La aplicación de la Ecuación a1-17 muestra que el intervalo de confianza disminuye en $\sqrt{N}$ en el caso del promedio de N replicados. Así, una forma más general de expresar la Ecuación a1-18 es

$$\text{LC para } \mu = x \pm \frac{z\sigma}{\sqrt{N}} \quad (\text{a1-19})$$

En la Tabla a1-3 se encuentran valores de z para varios niveles de confianza.

TABLA a1-3. Niveles de confianza para varios valores de z

Nivel de confianza (%)	z	Nivel de confianza (%)	z
50	0,67	96	2,00
68	1,00	99	2,58
80	1,29	99,7	3,00
90	1,64	99,9	3,29
95	1,96		

EJEMPLO a1-3

El contenido en mercurio de siete peces procedentes del río Mississippi se determinó mediante un método basado en la absorción de radiación por el mercurio elemental gaseoso. Calcular la estima-

ción ponderada de la desviación estándar del método, basándose en las tres primeras columnas de datos que aparecen en la siguiente tabla:

Número de ejemplar	Número de muestras medidas	Contenido en Hg, ppm	Media, ppm de Hg	Suma de los cuadrados de las desviaciones respecto de la media
1	3	1,80; 1,58; 1,64	1,673	0,0259
2	4	0,96; 0,98; 1,02; 1,10	1,015	0,0115
3	2	3,13; 3,35	3,240	0,0242
4	6	2,06; 1,93; 2,12; 2,16; 1,89; 1,95	2,018	0,0611
5	4	0,57; 0,58; 0,64; 0,49	0,570	0,0114
6	5	2,35; 2,44; 2,70; 2,48; 2,44	2,482	0,0685
7	4	1,11; 1,15; 1,22; 1,04	1,130	0,0170
Número de medidas		28	Suma de las sumas de cuadrados = 0,2196	

Los valores que aparecen en las columnas 4 y 5 para el ejemplar 1 fueron calculados como a continuación se indica

x_i	$ (x_i - \bar{x}) $	$(x_i - \bar{x})^2$
1,80	0,127	0,0161
1,58	0,093	0,0087
1,64	0,033	0,0011
5,02	Suma de los cuadrados = 0,0259	

$$\bar{x} = \frac{5,02}{3} = 1,673$$

Los otros datos de las columnas 4 y 5 se obtuvieron de forma similar. Luego

$$s_{ponderada} = \sqrt{\frac{0,0259 + 0,0115 + 0,0242 + 0,0611 + 0,0114 + 0,0685 + 0,0170}{28 - 7}}$$

$$= 0,100 \text{ ppm Hg}$$

EJEMPLO a1-4

Calcular los límites de confianza del 50 por 100 y del 95 por 100 para el valor de la media (1,67 ppm de Hg) para la muestra 1 en el Ejemplo a1-3. De nuevo $s \simeq \sigma = 0,10$.

Aplicando la Ecuación a1-19 a las tres medidas realizadas

$$50 \% \text{ LC} = 1,67 \pm \frac{0,67 \times 0,10}{\sqrt{3}}$$

$$= 1,67 \pm 0,04$$

$$95 \% \text{ LC} = 1,67 \pm \frac{1,96 \times 0,10}{\sqrt{3}}$$

$$= 1,67 \pm 0,11$$

Del Ejemplo a1-4 se concluye que hay un 50 por 100 de probabilidad de que μ , la media de la población (y *en ausencia de error sistemático* el valor verdadero), se encuentre entre los límites de 1,63 y 1,71 ppm de Hg. Además, hay un 95 por 100 de probabilidad de que μ se encuentre entre 1,56 y 1,78 ppm de Hg.

EJEMPLO a1-5

¿Cuántas medidas replicadas del ejemplar 1 del Ejemplo a1-3 serían necesarias para disminuir el intervalo de confianza del 95 por 100 hasta $\pm 0,07$ ppm de Hg?

El valor ponderado de s es una buena estimación de σ . La sustitución en la Ecuación a1-19 de un intervalo de confianza de $\pm 0,07$ ppm de Hg, conduce a:

$$0,07 = \pm \frac{zs}{\sqrt{N}} = \pm \frac{1,96 \times 0,10}{\sqrt{N}}$$

$$\sqrt{N} = \pm \frac{1,96 \times 0,10}{0,07} = 2,80$$

$$N = 7,8.$$

Así pues, se concluye que ocho medidas proporcionarían una probabilidad ligeramente mejor del 95 por 100 de que la media de la población estuviera dentro de un intervalo de $\pm 0,07$ ppm de Hg de la media experimental.

Considerando la Ecuación a1-19 se deduce que el intervalo de confianza para un análisis puede reducirse a la mitad si se utiliza en los cálculos la media de cuatro medidas. Para reducir otra vez a la mitad el intervalo, se necesitarían dieciséis medidas. Así, se suele aprovechar la ganancia relativamente grande que se logra al promediar de dos a cuatro medidas, dado que rara vez se dispone del tiempo necesario para mejorar más la confianza.

En el análisis de los datos, es esencial tener siempre presente que los límites de confianza basados en la Ecuación a1-19 sólo se aplican *en ausencia de errores sistemáticos*.

Límites de confianza cuando σ es desconocida

Con frecuencia, el químico debe hacer uso de métodos que le son poco familiares, donde las limitaciones de tiempo o las de cantidad de muestra disponible impiden una estimación exacta de σ . En estos casos, un único conjunto de medidas replicadas debe proporcionar no sólo el valor de la media sino también una estimación de la precisión. Como se ha indicado anteriormente, el valor de s calculado a partir de un conjunto pequeño de datos puede estar sujeto a una incertidumbre considerable; por tanto, cuando no se dispone de una buena estimación de σ , los límites de confianza deben ampliarse.

Para tener en cuenta la posible variabilidad en s , se utiliza el parámetro estadístico t , que se define como

$$t = (x - \mu)/s \quad (\text{a1-20})$$

Véase la similitud entre las Ecuaciones a1-20 y a1-14. Al contrario que el parámetro z de la Ecuación a1-14, t depende no sólo del nivel de confianza deseado sino también del número de grados de libertad disponibles para el cálculo de s . La Tabla a1-4 proporciona los valores de t para un número reducido de grados de libertad; se pueden encontrar tablas más extensas en la mayoría de las compilaciones de matemáticas. Obsérvese que los valores de t llegan a igualarse con los de z (Tabla a1-3) a medida que el número de grados de libertad se hace próximo a infinito. El parámetro t se le denomina, con frecuencia, *t de student*, seudónimo utilizado por el matemático británico W. S. Gossett que fue quien primero la describió y demostró su utilidad.

El límite de confianza para la media $\bar{x}$ de N medidas replicadas puede obtenerse mediante el cálculo a partir de t con una ecuación análoga a la a1-19; esto es,

$$\text{CL para } \mu = \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}} \quad (\text{a1-21})$$

TABLA a1-4. Valores de t para varios niveles de probabilidad

Grados de libertad	Valor para un intervalo de confianza (%)				
	80	90	95	99	99,9
1	3,08	6,31	12,7	63,7	637
2	1,89	2,92	4,30	9,92	31,6
3	1,64	2,35	3,18	5,84	12,9
4	1,53	2,13	2,78	4,60	8,60
5	1,48	2,02	2,57	4,03	6,86
6	1,44	1,94	2,45	3,71	5,96
7	1,42	1,90	2,36	3,50	5,40
8	1,40	1,86	2,31	3,36	5,04
9	1,38	1,83	2,26	3,25	4,78
10	1,37	1,81	2,23	3,17	4,59
11	1,36	1,80	2,20	3,11	4,44
12	1,36	1,78	2,18	3,06	4,32
13	1,35	1,77	2,16	3,01	4,22
14	1,34	1,76	2,14	2,98	4,14
∞	1,29	1,64	1,96	2,58	3,29

EJEMPLO a1-6

Un químico obtuvo los siguientes datos al determinar el contenido de alcohol de una muestra de sangre; tanto por ciento de etanol = 0,084, 0,089 y

0,079. Calcular el límite de confianza del 95 por 100, para la media, suponiendo que: (a) no se conoce la precisión del método y, (b) de experiencias previas se sabe que $s \rightarrow \sigma = 0,006$ por 100 de etanol.

$$\begin{aligned} \text{(a)} \quad \Sigma x_i &= 0,084 + 0,089 + 0,079 = 0,252 \\ \Sigma x_i^2 &= 0,0070566 + 0,007921 + 0,006241 = \\ &= 0,021218 \end{aligned}$$

$$s = \sqrt{\frac{0,021218 - (0,252)^2/3}{3 - 1}} = 0,0050$$

En este caso, $\bar{x} = 0,252/3 = 0,084$. La Tabla a1-4 indica que $t = \pm 4,30$ para dos grados de libertad y un 95 por 100 de confianza. Así,

$$\begin{aligned} \text{LC del 95 \%} &= \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}} \\ &= 0,084 \pm \frac{4,3 \times 0,0050}{\sqrt{3}} \\ &= 0,084 \pm 0,012 \end{aligned}$$

(b) Dado que se dispone de un buen valor de σ

$$\begin{aligned} \text{LC del 95 \%} &= \bar{x} \pm \frac{z\sigma}{\sqrt{N}} \\ &= 0,084 \pm \frac{1,96 \times 0,006}{\sqrt{3}} \\ &= 0,084 \pm 0,007 \end{aligned}$$

Del Ejemplo a1-6 se deduce que una buena estimación de σ reduce casi a la mitad el intervalo de confianza.

a1B-3. Prueba del sesgo

Como ya se indicó en el Apartado a1A-2, el sesgo de un método analítico, generalmente, se detecta analizando uno o varios materiales de referencia cuya composición se conoce. Con toda seguridad, la media experimental del análisis $\bar{x}$ diferirá del valor verdadero μ proporcionado para el material de referencia. En este caso, debe juzgarse si esta diferencia es consecuencia de un error aleatorio en el análisis del material de referencia o de un sesgo en el método usado.

La forma habitual de tratar estadísticamente este problema consiste en comparar la diferencia experimental $\bar{x} - \mu$ con la diferencia que cabría esperar para un nivel de probabilidad dado si no existiera sesgo. Si el valor experimental $\bar{x} - \mu$ es mayor que la diferencia calculada, es probable que exista un sesgo. Por el contrario, si el valor experimental es igual o menor que la diferencia calculada, no queda demostrada la presencia de un sesgo.

Este test de detección del sesgo utiliza el parámetro estadístico t discutido anteriormente. En este caso se reordena la Ecuación a1-21 para dar

$$\bar{x} - \mu = \pm \frac{ts}{\sqrt{N}} \quad (\text{a1-22})$$

donde N es el número de medidas replicadas que se han utilizado en el test. Si se dispone de una buena estimación de σ , entonces, la ecuación puede modificarse sustituyendo t por z y s por σ . La presencia de un sesgo en el método viene indicada cuando el valor $\bar{x} - \mu$ experimental es mayor que el valor $\bar{x} - \mu$ calculado a partir de la Ecuación a1-22. Por el contrario, si el valor calculado a partir de la Ecuación a1-22 es más grande, no queda demostrada la presencia de un sesgo.

EJEMPLO a1-7

Se ensayó un nuevo procedimiento para la determinación rápida de azufre en queroseno, se analizó una muestra que, por el método de preparación, se sabía que contenía 0,123 por 100 de S. Los resultados fueron: porcentaje de S = 0,112; 0,118; 0,115 y 0,119. ¿Indican los datos la presencia de un sesgo en el método?

$$\Sigma x_i = 0,112 + 0,118 + 0,115 + 0,119 = 0,464$$

$$\bar{x} = 0,464/4 = 0,116 \% \text{ de S}$$

$$\bar{x} - \mu = 0,116 - 0,123 = -0,007 \% \text{ de S}$$

$$\Sigma x_i^2 = 0,012544 + 0,013924 + 0,013225 + 0,014161 = 0,053854$$

$$s = \sqrt{\frac{0,053854 - (0,464)^2/4}{4 - 1}} = \sqrt{\frac{0,000030}{3}} = 0,0032$$

En la Tabla a1-4 se ve que para un nivel de confianza del 95 por 100 y tres grados de libertad, el valor de t es 3,18. Por tanto,

$$\frac{ts}{\sqrt{4}} = \frac{3,18 \times 0,0032}{\sqrt{4}} = \pm 0,0051$$

Puede esperarse que la media experimental se desvie $\pm 0,0051$ o algo más con una frecuencia no mayor de 5 veces de cada 100. Así, si establecemos que $\bar{x} - \mu = -0,007$ es una diferencia significativa y que hay un sesgo presente, nos equivocaremos, en promedio, menos de 5 veces de cada 100.

Si se realiza un cálculo similar utilizando el valor de t para un nivel de confianza del 99 por 100, $ts/\sqrt{N}$ vale 0,0093. Así, si se insiste en no estar equivocados más de una vez de cada 100, debemos concluir que no se ha *demonstrado* la existencia del sesgo. Obsérvese que esta afirmación es diferente de decir que no hay sesgo.

EJEMPLO a1-8

Supongamos que, de anteriores experiencias, se sabe que el método descrito en el Ejemplo a1-7 tiene una desviación estándar de la población del 0,0032 por 100 de S. Esto es, $s \rightarrow \sigma = 0,0032$. ¿Puede deducirse la presencia de un sesgo para un nivel de confianza del 99 por 100?

En este caso se escribirá que

$$\bar{x} - \mu = \pm \frac{z\sigma}{\sqrt{N}} = \pm \frac{2,58 \times 0,0032}{\sqrt{4}} = \pm 0,00413$$

La diferencia experimental de $-0,007$ es significativamente mayor que este número. Por tanto, indica claramente un sesgo.

a1B-4. Propagación de la incertidumbre de las medidas

Un típico método instrumental de análisis implica varias medidas experimentales, cada una de las cuales está sujeta a una incertidumbre indeterminada y cada una de ellas contribuye al error indeterminado neto del resultado final. A fin de mostrar cómo dichas incertidumbres afectan al resultado de un análisis, supongamos que un resultado x depende de las variables experimentales $p, q, r, \dots$ cada una de las cuales fluctúa de forma aleatoria e inde-

pendiente. Esto es, x es una función de $p, q, r, \dots$, de tal manera que se puede escribir

$$x = f(p, q, r, \dots) \quad (\text{a1-23})$$

La incertidumbre dx_i (desviación respecto de la media) de la i -ésima medida de x dependerá del tamaño y signo de las correspondientes incertidumbres $dp, dq, dr, \dots$, y puede escribirse

$$dx_i = f(dp_i, dq_i, dr_i, \dots)$$

La variación de dx en función de las incertidumbres de $p, q, r, \dots$ puede deducirse teniendo en cuenta la derivada parcial de x (Ecuación a1-23) con respecto a cada una de las variables $p, q, r, \dots$. Es decir,

$$dx = \left(\frac{\partial x}{\partial p}\right) dp + \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right) dq + \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right) dr + \dots \quad (\text{a1-24})$$

Para encontrar una relación entre la desviación estándar de x y las desviaciones estándar de p, q y r , es necesario elevar al cuadrado la anterior ecuación. Así:

$$(dx)^2 = \left[\left(\frac{\partial x}{\partial p}\right) dp + \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right) dq + \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right) dr + \dots \right]^2 \quad (\text{a1-25})$$

Esta ecuación ha de sumarse entre los límites de $i = 1$ a $i = N$, donde N es, de nuevo, el número total de medidas replicadas.

Al elevar al cuadrado la Ecuación a1-24, surgen dos tipos de términos procedentes de la parte derecha de la ecuación: (1) términos elevados al cuadrado y (2) términos producto. Los términos elevados al cuadrado pueden escribirse

$$\left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)^2 dp^2, \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right)^2 dq^2, \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right)^2 dr^2, \dots$$

Los términos elevados al cuadrado son siempre positivos y no pueden, por ello, *anularse nunca*. Por el contrario, los términos producto pueden tener signo positivo o negativo. Ejemplos de ello son

$$\left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)\left(\frac{\partial x}{\partial q}\right) dpdq, \left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)\left(\frac{\partial x}{\partial r}\right) dpdr, \dots$$

Si dp, dq y dr representan *incertidumbres aleatorias e independientes*, algunos de los términos producto serán negativos y otros positivos. Así, la *suma de todos estos términos debe aproximarse a cero*, en particular cuando N es grande⁸.

Como consecuencia de la tendencia de los términos producto a cancelarse, la suma de la Ecuación a1-25 desde $i = 1$ hasta $i = N$ puede suponerse que está compuesta exclusivamente por los términos al cuadrado. Esta suma puede escribirse

$$\Sigma(dx_i)^2 = \left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)^2 \Sigma(dp_i)^2 + \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right)^2 \Sigma(dq_i)^2 + \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right)^2 \Sigma(dr_i)^2 + \dots \quad (\text{a1-26})$$

Dividiendo por N resulta

$$\frac{\Sigma(dx_i)^2}{N} = \left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)^2 \frac{\Sigma(dp_i)^2}{N} + \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right)^2 \frac{\Sigma(dq_i)^2}{N} + \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right)^2 \frac{\Sigma(dr_i)^2}{N} + \dots \quad (\text{a1-27})$$

Sin embargo, a partir de la Ecuación a1-7 se observa que

$$\frac{\Sigma(dx_i)^2}{N} = \frac{\Sigma(x_i - \mu)^2}{N} = \sigma_x^2$$

donde σ_x^2 es la varianza de x . De forma análoga,

$$\frac{\Sigma(dp_i)^2}{N} = \sigma_p^2$$

y así sucesivamente. Así pues, la Ecuación a1-27 puede escribirse en términos de las varianzas de las cantidades; esto es,

$$\sigma_x^2 = \left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)^2 \sigma_p^2 + \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right)^2 \sigma_q^2 + \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right)^2 \sigma_r^2 + \dots \quad (\text{a1-28})$$

El ejemplo siguiente ilustra cómo se utiliza la Ecuación a1-28 para obtener la varianza de una cantidad calculada a partir de varios datos experimentales.

⁸ Si las variables no son independientes, los términos producto deberán mantenerse independientemente del tamaño de N . Véase S. L. Meyer, *Data Analysis for Scientists and Engineers*, New York: John Wiley, 1975.

EJEMPLO a1-9

El número de platos N de una columna cromatográfica puede calcularse a partir de la Ecuación 26-17 (Capítulo 26):

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2$$

donde t_R es el tiempo de retención y W es la anchura del pico cromatográfico en las mismas unidades que t_R . El significado de estos términos se explica en la Figura 26-6.

El hexaclorobenceno exhibe un pico en cromatografía de líquidos de alta resolución con un tiempo de retención de 13,36 minutos. La anchura del pico en su base es de 2,18 minutos. La desviación estándar s de las dos medidas de tiempo es de 0,043 y 0,061 minutos, respectivamente. Calcular (a) el número de platos de la columna y (b) la desviación estándar del resultado calculado.

$$(a) \quad N = 16 \left(\frac{13,36}{2,18} \right)^2 = 601 \text{ platos}$$

(b) Sustituyendo s por σ en la Ecuación a1-28 resulta

$$s_N^2 = \left(\frac{\partial N}{\partial t_R} \right)_W^2 s_{t_R}^2 + \left(\frac{\partial N}{\partial W} \right)_{t_R}^2 s_W^2$$

Obteniendo la derivada parcial de la ecuación original

$$\left(\frac{\partial N}{\partial t_R} \right)_W = \frac{32 t_R}{W^2} \quad \text{y} \quad \left(\frac{\partial N}{\partial W} \right)_{t_R} = \frac{-32 t_R^2}{W^3}$$

Sustituyendo estas relaciones en la ecuación previa resulta

$$\begin{aligned} s_N^2 &= \left(\frac{32 t_R}{W^2} \right)^2 s_{t_R}^2 + \left(\frac{-32 t_R^2}{W^3} \right)^2 s_W^2 \\ &= \left(\frac{32 \times 13,36 \text{ min}}{(2,18 \text{ min})^2} \right)^2 (0,061 \text{ min})^2 \\ &\quad + \left(\frac{-32 (13,36 \text{ min})^2}{(2,18 \text{ min})^3} \right)^2 (0,043 \text{ min})^2 = 592,1 \end{aligned}$$

$$s_N \sqrt{592,1} = 24,3 = 24 \text{ platos}$$

$$\text{Así pues, } N = 6,0(\pm 0,2) \times 10^2 \text{ platos.}$$

a1B-5. Redondeo de los resultados de los cálculos matemáticos

La Ecuación a1-28 ayuda a decidir cómo deberían redondearse los resultados de los cálculos aritméticos. Por ejemplo, considérese el caso en que el resultado x se calcula a partir de la relación

$$x = p + q - r$$

en la que p , q y r son cantidades experimentales cuyas desviaciones estándar para una muestra son respectivamente s_p , s_q y s_r . Aplicando la Ecuación a1-18 (o sea, utilizando desviaciones estándar de muestra en lugar de las correspondientes a la población) resulta

$$s_x^2 = \left(\frac{\partial x}{\partial p} \right)_{q,r}^2 s_p^2 + \left(\frac{\partial x}{\partial q} \right)_{p,r}^2 s_q^2 + \left(\frac{\partial x}{\partial r} \right)_{p,q}^2 s_r^2$$

Ahora bien,

$$\left(\frac{\partial x}{\partial p} \right)_{q,r} = \left(\frac{\partial x}{\partial q} \right)_{p,r} = 1 \quad \text{y} \quad \left(\frac{\partial x}{\partial r} \right)_{p,q} = -1$$

Por tanto, la varianza de x viene dada por

$$s_x^2 = s_p^2 + s_q^2 + s_r^2$$

o la desviación estándar del resultado viene dada por

$$s_x = \sqrt{s_p^2 + s_q^2 + s_r^2}$$

En consecuencia, la desviación estándar absoluta de una suma o de una resta es igual a la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de las desviaciones estándar absolutas de los números que constituyen dicha suma o resta.

Las relaciones de la columna 3 de la Tabla a1-5 se obtienen procediendo de la misma manera pero para otras operaciones aritméticas. Obsérvese que en los distintos cálculos, las varianzas relativas como $(s_x/x)^2$ y $(s_p/p)^2$ se combinan en lugar de las desviaciones estándar absolutas.

EJEMPLO a1-10

Calcular la desviación estándar del resultado de la siguiente operación:

$$\frac{[14,3(\pm 0,2) - 11,6(\pm 0,2)] \times 0,050(\pm 0,001)}{[820(\pm 10) \pm 1.030(\pm 5)] \times 42,3(\pm 0,4)} = 1,725(\pm ?) \times 10^{-6}$$

Primero debe calcularse la desviación estándar de la suma y de la resta. La desviación estándar s_p de la resta del numerador viene dada por:

$$s_p = \sqrt{(\pm 0,2)^2 + (\pm 0,2)^2} = \pm 0,283$$

Para la suma del denominador, la desviación estándar s_q es:

$$s_q = \sqrt{(\pm 10)^2 + (\pm 5)^2} = \pm 11,2$$

Por tanto, puede reescribirse la ecuación como:

$$\frac{2,7(\pm 0,283) \times 0,050(\pm 0,001)}{1.850(\pm 11,2) \times 42,3(\pm 0,4)} = 1,725 \times 10^{-6}$$

Ahora, la ecuación sólo contiene productos y cocientes y, por tanto, se puede aplicar la Ecuación (2) de la Tabla a1-5:

$$\frac{s_x}{x} = \sqrt{\left(\frac{\pm 0,283}{2,7}\right)^2 + \left(\frac{\pm 0,001}{0,050}\right)^2 + \left(\frac{\pm 11,2}{1850}\right)^2 + \left(\frac{\pm 0,4}{42,3}\right)^2} = \pm 0,107$$

Para obtener la desviación estándar absoluta, se escribe:

$$s_x = \pm 0,107x = \pm 0,0107 \times 1,725 \times 10^{-6} = \pm 0,185 \times 10^{-6}$$

y el resultado se redondea a $1,7(\pm 0,2) \times 10^{-6}$.

EJEMPLO a1-11

Calcular las desviaciones absolutas de los resultados de los siguientes cálculos. La desviación estándar absoluta de cada una de las cantidades se da entre paréntesis.

- (a) $x = \log [2,00(\pm 0,02) \times 10^{-4}] = -3,6990 \pm ?$
 (b) $x = \text{antilog} [1,200(\pm 0,003)] = 15,849 \pm ?$
 (c) $x = \text{antilog} [45,4(\pm 0,3)] = 2,5119 \times 10^{45} \pm ?$

- (a) Utilizando la Ecuación (4) de la Tabla a1-5 se obtiene

$$s_x = \pm 0,434 \times \frac{0,02 \times 10^{-4}}{2,00 \times 10^{-4}} = \pm 0,004$$

TABLA a1-5. Propagación del error en los cálculos aritméticos

Tipo de cálculo	Ejemplo*	Desviación estándar de x
Adición o sustracción	$x = p + q - r$	$s_x = \sqrt{s_p^2 + s_q^2 + s_r^2}$ (1)
Multiplicación o división	$x = p \cdot q/r$	$\frac{s_x}{x} = \sqrt{\left(\frac{s_p}{p}\right)^2 + \left(\frac{s_q}{q}\right)^2 + \left(\frac{s_r}{r}\right)^2}$ (2)
Exponencial	$x = p^y$	$\frac{s_x}{x} = y \frac{s_p}{p}$ (3)
Logaritmo	$x = \log_{10} p$	$s_x = 0,434 \frac{s_p}{p}$ (4)
Antilogaritmo	$x = \text{antilog}_{10} p$	$\frac{s_x}{x} = 2,303 s_p$ (5)

* p , q y r son las variables experimentales cuyas desviaciones estándar son s_p , s_q y s_r .

Por tanto,

$$\log [2,00(\pm 0,02) \times 10^{-4}] = -3,699 (\pm 0,004)$$

- (b) Usando la Ecuación (5) de la Tabla a1-5, se obtiene

$$\frac{s_x}{x} = 2,303 \times (\pm 0,003) = \pm 0,0069$$

$$s_x = \pm 0,0069x = \pm 0,0069 \times 15,849 = 0,109$$

$$\text{Por tanto, antilog } [1,200(\pm 0,003)] \\ = 15,8 \pm 0,1$$

(c) $\frac{s_x}{x} = 2,303 (\pm 0,3) = \pm 0,691$

$$s_x = \pm 0,691 \times 2,511 \times 10^{45} = \pm 1,7 \times 10^{45}$$

$$\text{En consecuencia, antilog } [45,4 (\pm 0,3)] \\ = 2,5 (\pm 1,7) \times 10^{45}$$

El Ejemplo a1-11 demuestra que el antilogaritmo de un número que posea sólo unos pocos decimales conlleva un error absoluto grande. Esta gran incertidumbre surge del hecho de que las cifras a la izquierda de la coma decimal (la característica del número) sólo sirven para situar la coma. El gran error en los resultados de los antilogaritmos proviene de la incertidumbre relativamente grande de la *mantisa* del número (esto es, $0,4 \pm 0,3$).

a1C. MÉTODO DE MÍNIMOS CUADRADOS

La mayoría de los métodos analíticos se basan en una curva de calibración en la que una cantidad medida y se representa en función de la concentración conocida x de una serie de estándares. La Figura a1-6 muestra una curva de calibración típica, deducida para la determinación cromatográfica de isooctano en muestras de hidrocarburos. La ordenada (la variable dependiente) es el área del pico cromatográfico del isooctano, y la abscisa (la variable independiente) es el tanto por ciento en moles de isooctano. Lo más habitual (y deseable) es que la gráfica se aproxime a una línea recta. Obsérvese, sin embargo, que no todos los datos quedan exactamente sobre dicha línea debido a los errores

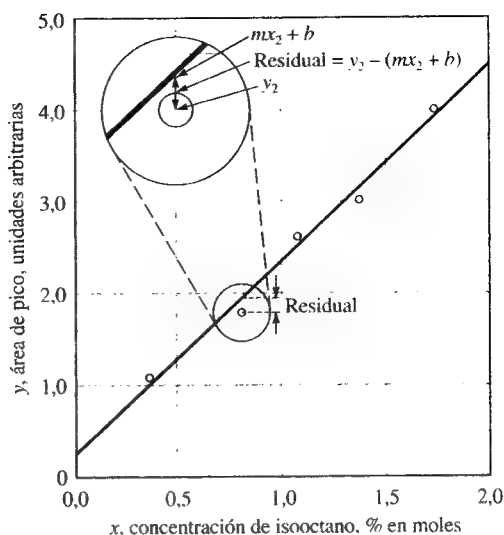


Figura a1-6. Curva de calibración para la determinación de isooctano en mezclas de hidrocarburos.

aleatorios del proceso de medida. Por tanto, se debe intentar ajustar la «mejor» línea recta que pase a través de los puntos. La forma más habitual de encontrar dicha línea es utilizar el *método de mínimos cuadrados*.

Al aplicar el método de mínimos cuadrados, se supone que la línea recta es un buen modelo para relacionar el área de los picos (y) y la concentración de analito (x) que viene dada por la ecuación

$$y = mx + b$$

en la que m es la pendiente de la línea recta y b la ordenada en el origen. La pendiente y la ordenada en el origen se conocen como *parámetros* del modelo, que, en este caso, corresponde a una línea recta. También se supone que cualquier desviación de los puntos individuales respecto a la línea recta, proviene del error en la medida del área y que no existe error en los valores de x , esto es, que las concentraciones de las disoluciones estándar se conocen exactamente.

Como muestra la Figura a1-6, la desviación vertical de cada punto respecto a la línea recta se denomina *residual*. La línea obtenida por el método de mínimos cuadrados es aquella que minimiza la suma de los cuadrados de los residuales de todos los puntos. Por conveniencia, se definen tres cantidades S_{xx} , S_{yy} y S_{xy} , y tal como sigue:

$$S_{xx} = \sum (x_i - \bar{x})^2 = \sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{N} \quad (\text{a1-29})$$

$$S_{yy} = \sum (y_i - \bar{y})^2 = \sum y_i^2 - \frac{(\sum y_i)^2}{N} \quad (\text{a1-30})$$

$$S_{xy} = \sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) = \sum x_i y_i - \frac{\sum x_i \sum y_i}{N} \quad (\text{a1-31})$$

En estas ecuaciones x_i e y_i , son las coordenadas de los puntos correspondientes a los datos individuales, N es el número de pares de datos utilizados al preparar la curva de calibración y $\bar{x}$ e $\bar{y}$ son los valores promedio de las variables, o

$$\bar{x} = \sum x_i / N \quad y \quad \bar{y} = \sum y_i / N$$

Obsérvese que S_{xx} y S_{yy} son las sumas de los cuadrados de las desviaciones respecto de la media de los valores individuales de x e y . Cuando se usa una calculadora de bolsillo, es mas conveniente utilizar los miembros que aparecen más a la derecha en las Ecuaciones a1-29, a1-30 y a1-31.

A partir de S_{xx} , S_{yy} , y S_{xy} , pueden calcularse seis parámetros muy útiles.

1. La pendiente de la recta, m :

$$m = S_{xy} / S_{xx} \quad (\text{a1-32})$$

2. La ordenada en el origen b :

$$b = \bar{y} - m\bar{x} \quad (\text{a1-33})$$

3. La desviación estándar de la regresión, o el error estándar del cálculo de los residuales s_r ($y_c - mx - b$):

$$s_r = \sqrt{\frac{S_{yy} - m^2 S_{xx}}{N - 2}} \quad (\text{a1-34})$$

4. La desviación estándar de la pendiente s_m :

$$s_m = s_r / \sqrt{S_{xx}} \quad (\text{a1-35})$$

5. La desviación estándar de la ordenada en el origen s_b :

$$s_b = s_r \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{N \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}} \quad (\text{a1-36})$$

$$= s_r \sqrt{\frac{1}{N - (\sum x_i)^2 / \sum x_i^2}}$$

6. La desviación estándar de los resultados analíticos s_c obtenidos a partir de los parámetros de los datos ajustados por mínimos cuadrados:

$$s_c = \frac{s_r}{m} \sqrt{\frac{1}{M} + \frac{1}{N} + \frac{(\bar{y}_c - \bar{y})^2}{m^2 S_{xx}}} \quad (\text{a1-37})$$

La Ecuación a1-37 permite calcular la desviación estándar de la media $\bar{y}_c$, de un conjunto de M análisis replicados cuando se usa una curva de calibración de N puntos; recuérdese que $\bar{y}$ es el valor de la media de y para los N datos de la calibración.

EJEMPLO a1-12

Obtener la regresión por mínimos cuadrados de los datos experimentales indicados en las dos primeras columnas de la Tabla a1-6 y representados en la Figura a1-6.

Las columnas 3, 4 y 5 de la tabla contienen los valores calculados para x_i^2 , y_i^2 , y $x_i y_i$; sus sumas aparecen en la última fila de cada columna. Obsérvese que el número de dígitos mantenidos en los valores calculados debería ser el máximo permitido por la calculadora o el ordenador, y no debería realizarse el redondeo hasta que se haya completado todo el cálculo.

Si se sustituye en las Ecuaciones a1-29, a1-30 y a1-31 se obtiene

$$S_{xx} = \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2 / N = 6,90201 - (5,365)^2 / 5 = 1,14537$$

$$S_{yy} = \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2 / N = 36,3775 - (12,51)^2 / 5 = 5,07748$$

$$S_{xy} = \sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i / N = 15,81992 - 5,365 \times 12,51 / 5 = 2,39669$$

Sustituyendo estas cantidades en las Ecuaciones a1-32 y a1-33 resulta

$$m = 2,39669 / 1,14537 = 2,0925 = 2,09$$

$$b = \frac{12,51}{5} - 2,0925 \times \frac{5,365}{5} = 0,2567 = 0,26$$

Así pues, la ecuación de la recta obtenida por mínimos cuadrados es

$$y = 2,09 x + 0,26$$

La sustitución en la Ecuación a1-34 proporciona la desviación estándar de los residuales:

$$s_r = \sqrt{\frac{S_{yy} - m^2 S_{xx}}{N - 2}}$$

$$= \sqrt{\frac{5,07748 - (2,0925)^2 \times 1,14537}{5 - 2}}$$

$$= 0,144 = 0,14$$

y la sustitución en la Ecuación a1-35 da la desviación estándar de la pendiente:

$$s_m = s_r \sqrt{S_{xx}} = 0,144 / \sqrt{1,14537} = 0,13$$

La desviación estándar de la ordenada en el origen se obtiene a partir de la Ecuación a1-36. Así

$$s_b = 0,144 \sqrt{\frac{1}{5 - (5,365)^2 / 6,90201}} = 0,16$$

EJEMPLO a1-13

La curva de calibración obtenida en el Ejemplo a1-12 se utilizó para la determinación cromatográfica de isooctano en una mezcla de hidrocarburos. El área de pico obtenida fue de 2,65. Calcular el porcentaje molar de isooctano y la desviación estándar del resultado si el área fue (a) el resultado de una única medida y (b) la media de cuatro medidas.

Para ambos casos,

$$x = \frac{y - 0,26}{2,09} = \frac{2,65 - 0,26}{2,09} = 1,14 \text{ moles \%}$$

(a) Sustituyendo en la Ecuación a1-37, se obtiene

$$s_c = \frac{0,14}{2,09} \sqrt{\frac{1}{1} + \frac{1}{5} + \frac{(2,65 - 12,51/5)^2}{(2,09)^2 \times 1,145}}$$

$$= 0,074 \text{ moles \%}$$

(b) Para la media de las cuatro medidas,

$$s_c = \frac{0,14}{2,09} \sqrt{\frac{1}{4} + \frac{1}{5} + \frac{(2,65 - 12,51/5)^2}{(2,09)^2 \times 1,145}}$$

$$= 0,046 \text{ moles \%}$$

TABLA a1-6. Datos de la calibración de un método cromatográfico para la determinación de isooctano en una mezcla de hidrocarburos

Porcentaje molar de isooctano, x_i	Área de pico, y_i	x_i^2	y_i^2	$x_i y_i$
0,352	1,09	0,12390	1,1881	0,38368
0,803	1,78	0,64481	3,1684	1,42934
1,08	2,60	1,16640	6,7600	2,80800
1,38	3,03	1,90440	9,1809	4,18140
1,75	4,01	3,06250	16,0801	7,01750
5,365	12,51	6,90201	36,3775	15,81992

a1D. CUESTIONES Y PROBLEMAS

a1-1. Considerar los conjuntos de datos mostrados en la tabla de la página siguiente (parte superior derecha):

Calcular: (a) la media de cada uno de los conjuntos de datos e indicar cuántos grados de libertad están asociados con el cálculo de $\bar{x}$, (b) la desviación estándar absoluta de cada conjunto, e indicar cuántos grados de libertad están asociados con el cálculo de s ; (c) el error estándar de la media de

cada conjunto; (d) el coeficiente de variación respecto de la media de los datos individuales.

A	B	C	D
61,45	3,27	12,06	2,7
61,53	3,26	12,14	2,4
61,32	3,24		2,6
	3,24		2,9
	3,28		
	3,23		

- a1-2.** Los valores aceptados para los conjuntos de datos del Problema a1-1 son: A 61,71; B 3,28; C 12,23 y D 2,75. Calcular: (a) el error absoluto de la media de cada conjunto; (b) el error relativo, en tanto por ciento, de cada una de las medias.
- a1-3.** Un método determinado para el análisis de cobre da resultados que en todos los casos difieren del valor verdadero 0,5 mg, por defecto. ¿Cuál será el error relativo, en tanto por ciento, debido a esta causa si el peso de cobre en la muestra es (a) 25 mg; (b) 100 mg; (c) 250 mg; (d) 500 mg?
- a1-4.** El método descrito en el Problema a1-3 se va a utilizar para analizar una mena que contiene alrededor de un 4,8 por 100 de cobre. ¿Qué peso mínimo de muestra debería tomarse si el error relativo debido a los 0,5 mg de pérdida, ha de ser menor de un (a) 0,1 por 100; (b) 0,5 por 100; (c) 0,8 por 100; (d) 1,2 por 100?
- a1-5.** Una técnica instrumental dada presenta una desviación estándar de un 1,0 por 100. ¿Cuántas medidas replicadas son necesarias si el error estándar de la media ha de ser de un 0,01 por 100?
- a1-6.** Se sabe que una cierta técnica presenta una media de 0,500 y una desviación estándar de $1,84 \times 10^{-3}$. También se sabe que sigue una distribución gaussiana. ¿Cuántos replicados son necesarios para que el error estándar de la media no supere el 0,100 por 100?
- a1-7.** Un método particular para la determinación de cromo en muestras geológicas lleva asociado una pérdida constante por solubilidad de unos 1,8 mg. Una muestra que contiene aproximadamente un 18 por 100 de Cr se analizó por este método. Si la muestra que se tomó para el análisis pesó 0,400 g, predecir el error relativo (en partes por mil) de los resultados debido al citado error sistemático.
- a1-8.** Los siguientes datos provienen del estudio de control del ion calcio en el plasma sanguíneo de distintos individuos:

Individuo	Contenido medio en calcio (mg/100 mL)	Número de observaciones	Desviación de los resultados individuales respecto de la media
1	3,16	5	0,14; 0,09; 0,06; 0,00; 0,11
2	4,08	4	0,07; 0,12; 0,10; 0,01
3	3,75	5	0,13; 0,05; 0,08; 0,14; 0,07
4	3,49	3	0,10; 0,13; 0,07
5	3,32	6	0,07; 0,10; 0,11; 0,03; 0,14; 0,05

- (a) Calcular s para cada conjunto de valores.
- (b) Ponderar los datos y calcular la s del método analítico.

- a1-9.** Un método para la determinación del contenido de plomo en muestras de aerosoles atmosféricos se basa en la aspiración a través de un filtro de una cantidad medida de aire, y en el posterior análisis de dichos filtros cortados en círculos. Calcular los valores de s en cada caso, así como el valor ponderado de los datos.

Muestra	$\mu\text{g Pb/m}^3$ de aire
1	1,5; 1,2; 1,3
2	2,0; 2,3; 2,3; 2,2
3	1,8; 1,7; 1,4; 1,6
4	1,6; 1,3; 1,2; 1,5; 1,6

a1-10. Estimar la desviación estándar absoluta y el coeficiente de variación de los resultados de los siguientes cálculos. Redondear cada resultado de forma que sólo contenga las cifras significativas. Los números entre paréntesis son las desviaciones estándar absolutas.

$$(a) \quad y = 6,75(\pm 0,03) + 0,843(\pm 0,001) - 7,021(\pm 0,001) = 0,572$$

$$(b) \quad y = 67,1(\pm 0,3) \times 1,03(\pm 0,02) \times 10^{-17} = 6,9113 \times 10^{-16}$$

$$(c) \quad y = 243(\pm 1) \times \frac{760(\pm 2)}{1,006(\pm 0,006)} = 183.578,5$$

$$(d) \quad y = \frac{143(\pm 6) - 64(\pm 3)}{1.249(\pm 1) + 77(\pm 8)} = 5,9578 \times 10^{-2}$$

$$(e) \quad y = \frac{1,97(\pm 0,01)}{243(\pm 3)} = 8,106996 \times 10^{-3}$$

a1-11. Estimar la desviación estándar absoluta y el coeficiente de variación de los resultados de los siguientes cálculos. Redondear cada resultado para que sólo incluya las cifras significativas. Los números entre paréntesis son las desviaciones estándar absolutas.

$$(a) \quad y = -1,02(\pm 0,02) \times 10^{-7} - 3,54(\pm 0,2) \times 10^{-8} = -1,374 \times 10^{-7}$$

$$(b) \quad y = 100,20(\pm 0,08) - 99,62(\pm 0,06) + 0,200(\pm 0,004) = 0,780$$

$$(c) \quad y = 0,0010(\pm 0,0005) \times 18,10(\pm 0,02) \times 200(\pm 1) = 3,62$$

$$(d) \quad y = [33,33(\pm 0,03)]^3 = 37.025,927$$

$$(e) \quad y = \frac{1,73(\pm 0,03) \times 10^{-14}}{1,63(\pm 0,04) \times 10^{-16}} = 106,1349693$$

a1-12. Basándose en una amplia experiencia previa, se sabe que la desviación estándar de un método analítico para determinar oro en el agua de mar es de 0,025 ppb. Calcular el intervalo de confianza del 99 por 100 para un análisis que usa este método, basado en

- (a) una única medida,
- (b) tres medidas,
- (c) cinco medidas.

a1-13. Un método establecido para el análisis de hidrocarburos clorados en muestras de aire tiene una desviación estándar de 0,030 ppm.

- (a) Calcular el intervalo de confianza del 95 por 100 para la media de cuatro medidas obtenidas con este método.
- (b) ¿Cuántas medidas deberían hacerse si se pretende que el intervalo de confianza del 95 por 100 sea $\pm 0,017$?

a1-14. Teniendo en cuenta una amplia experiencia previa, se ha encontrado que la desviación estándar de un método para el análisis de monóxido de carbono en los gases de escape de los automóviles es de 0,80 ppm.

- (a) Estimar el intervalo de confianza del 90 por 100 para un análisis por triplicado.
- (b) ¿Cuántas medidas serían necesarias para que el intervalo de confianza del 90 por 100 sea de 0,50 ppm?

a1-15. El tanto por ciento de níquel en una determinada muestra de un acero de referencia del NIST es de un 1,12 por 100 y su desviación estándar es 0,03 por 100. Un nuevo método espectrométrico para la determinación de níquel dio los siguientes tantos por ciento: 1,10; 1,08; 1,09; 1,12 y 1,09. ¿Hay algún indicio de sesgo en el método para un nivel de confianza del 95 por 100?

- a1-16.** Un método volumétrico para la determinación de calcio en piedra caliza se comprobó analizando una piedra caliza del NIST que contenía un 30,15 por 100 de CaO. La media del resultado de cuatro análisis fue de 30,26 por 100 de CaO, con una desviación estándar del 0,085 por 100. La ponderación de los datos de varios análisis establece que $s \rightarrow \sigma = 0,094$ por 100 de CaO.
- ¿Indican los datos la presencia de un error determinado para un nivel de confianza del 95 por 100?
 - ¿Indican los datos la presencia de un error determinado para un nivel de confianza del 95 por 100 si no se dispusiera para σ de un valor ponderado?
- a1-17.** Para comprobar la calidad del trabajo de un laboratorio comercial, se le solicitó el análisis por duplicado de una muestra de ácido benzoico purificado (68,8 por 100 de C, 4,953 por 100 de H). Se supone que la desviación estándar relativa del método es $s_r \rightarrow \sigma_r = 4$ ppt para el carbono, y de 6 ppt para el hidrógeno. Las medias de los resultados son 68,5 por 100 de C y 4,882 por 100 de H. Para un nivel de confianza del 95 por 100, ¿hay alguna indicación de error determinado en cualquiera de los análisis?
- a1-18.** El diámetro de una esfera es de 2,15 cm, y la desviación estándar de la media es de 0,02 cm. ¿Cuál es la mejor estimación del volumen de la esfera, y cuál es la desviación estándar de dicho volumen?
- a1-19.** Un determinado medidor de pH puede realizar lecturas con una desviación estándar de $\pm 0,01$ unidades de pH en el intervalo de 2 a 12. Calcular la desviación estándar de $[\text{H}_3\text{O}^+]$ en cada extremo de ese intervalo.
- a1-20.** Se prepara una solución por pesada de 5,0000 g de un compuesto X en un matraz aforado de 100 mL. La balanza tenía una precisión, expresada como desviación estándar, de 0,2 mg y el matraz aforado podía llenarse con una precisión de 0,15 mL, también expresada como desviación estándar. ¿Cuál es la desviación estándar estimada de la concentración en g/mL?
- a1-21.** Estimar la desviación estándar absoluta del resultado de las siguientes operaciones (los números entre paréntesis son las desviaciones estándar absolutas de los números que les preceden). Dar el resultado con el número apropiado de cifras significativas.
- $x = \log 878(\pm 4) = 2,94349$
 - $x = \log 0,4957(\pm 0,0004) = -0,30478$
 - $p = \text{antilogaritmo } 3,64(\pm 0,01) = 4365,16$
 - $p = \text{antilogaritmo } -7,191(\pm 0,002) = 6,44169 \times 10^{-8}$
- a1-22.** La concentración de ion sulfato en aguas naturales puede determinarse midiendo la turbidez que resulta cuando se añade un exceso de BaCl_2 , a una cantidad medida de muestra. El instrumento usado para este análisis, un turbidímetro, se calibró con una serie de soluciones estándar de Na_2SO_4 . En la calibración se obtuvieron los datos siguientes:

mg $\text{SO}_4^{2-}/\text{L}$, c_x	Lectura del turbidímetro, R
0,00	0,06
5,00	1,48
10,00	2,28
15,0	3,98
20,0	4,61

Suponer que existe una relación lineal entre la lectura del instrumento y la concentración.

- Representar los datos y dibujar a ojo la línea recta a través de los puntos.
- Obtener la ecuación de mínimos cuadrados que relaciona las distintas variables.
- Comparar la línea recta obtenida en (b) con la de (a).
- Calcular la desviación estándar de la pendiente y de la ordenada en el origen de la recta de mínimos cuadrados.

- (e) Calcular la concentración de sulfato en una muestra que da una lectura en el turbidímetro de 3,67. Calcular la desviación estándar absoluta del resultado y el coeficiente de variación.
- (f) Repetir los cálculos del apartado (e), pero suponiendo ahora que el valor 3,67 es la media de seis lecturas del turbidímetro.

a1-23. Los siguientes datos se obtuvieron al calibrar un electrodo selectivo del ion calcio para la determinación del pCa. Se sabe que existe una relación lineal entre el potencial E y el pCa.

- (a) Representar los datos y dibujar a ojo la línea recta a través de los puntos.
- (b) Calcular la ecuación de mínimos cuadrados para la mejor recta que pasa por los puntos. Representar dicha recta.
- (c) Calcular la desviación estándar de la pendiente y de la ordenada en el origen de la recta de mínimos cuadrados.

pCa	E , mV
5,00	-53,8
4,00	-27,7
3,00	+2,7
2,00	+31,9
1,00	+65,1

- (d) Calcular el pCa de una disolución de suero para la que el potencial del electrodo fue de 20,3 mV. Calcular las desviaciones estándar absoluta y relativa de dicho valor de pCa si éste se determinó a partir de una única medida de voltaje.
- (e) Calcular las desviaciones estándar absoluta y relativa del pCa si la lectura de (d) en milivoltios era la media de dos medidas replicadas. Repetir el cálculo basándolo en la media de ocho medidas.
- (f) Calcular la concentración molar de ion calcio para la muestra descrita en (d).
- (g) Calcular las desviaciones estándar absoluta y relativa de la concentración de ion calcio si la medida se realiza como se ha descrito en (e).

a1-24. Los siguientes valores son las áreas relativas de los picos de los cromatogramas correspondientes a unas disoluciones patrón de metilvinilcetona (MVK).

Concentración MVK, mmoles/L	Área relativa del pico
0,500	3,76
1,50	9,16
2,50	15,03
3,50	20,42
4,50	25,33
5,50	31,97

- (a) Deducir la ecuación de mínimos cuadrados suponiendo que las variables están relacionadas linealmente entre sí.
- (b) Representar los puntos experimentales, así como la recta de mínimos cuadrados.
- (c) Calcular la desviación estándar de la pendiente y de la ordenada en el origen de la recta.
- (d) Las áreas relativas de los picos correspondientes a dos muestras de MVK fueron 6,3 y 27,5. Calcular la concentración de MVK en cada disolución.
- (e) Suponer que los resultados del apartado (d) representan una única medida, así como la media de cuatro medidas. Calcular en ambos casos las desviaciones estándar absoluta y relativa.

Apéndice 2

Coeficientes de actividad

La relación entre la *actividad* a_X de una especie y su concentración molar $[X]$ viene dada por la expresión

$$a_X = \gamma_X[X] \quad (\text{a2-1})$$

donde γ_X es un número adimensional llamado *coeficiente de actividad*. El coeficiente de actividad, y por tanto la actividad de X, varían con la *fuerza iónica* de la disolución, de forma que la utilización de a_X en lugar de $[X]$ en el cálculo de un potencial de electrodo, o en los cálculos de otros equilibrios, hace que el valor numérico obtenido sea independiente de la fuerza iónica. En este caso la fuerza iónica μ se define por la ecuación

$$\mu = \frac{1}{2}(c_1Z_1^2 + c_2Z_2^2 + c_3Z_3^2 + \dots) \quad (\text{a2-2})$$

donde $c_1, c_2, c_3, \dots$ representan las concentraciones molares de los distintos iones en la disolución y $Z_1, Z_2, Z_3, \dots$ son sus respectivas cargas. Obsérvese que el cálculo de la fuerza iónica requiere tener en cuenta a *todas* las especies iónicas de la disolución, no sólo las reaccionantes.

EJEMPLO a2-1

Calcular la fuerza iónica de una disolución 0,0100 M en NaNO_3 y 0,0200 M en $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.

En este caso, se despreciará la contribución de los H^+ y los OH^- a la fuerza iónica, puesto que sus concentraciones son muy pequeñas comparadas con las de las dos sales. Las molaridades del Na^+ , NO_3^- y Mg^{2+} son 0,0100; 0,0500 y 0,0200, respectivamente. Por tanto

$$\begin{aligned} c_{\text{Na}^+} \times (1)^2 &= 0,0100 \times 1 = 0,0100 \\ c_{\text{NO}_3^-} \times (1)^2 &= 0,0500 \times 1 = 0,0500 \\ c_{\text{Mg}^{2+}} \times (2)^2 &= 0,0200 \times 2^2 = 0,0800 \\ \hline \text{Suma} &= 0,1400 \end{aligned}$$

$$\mu = \frac{1}{2} \times 0,1400 = 0,0700$$

a2A. PROPIEDADES DE LOS COEFICIENTES DE ACTIVIDAD

Los coeficientes de actividad tienen las siguientes propiedades:

1. El coeficiente de actividad de una especie se puede imaginar como una medida de la efectividad con la que esta especie influye en el equilibrio en el que participa. En disoluciones muy diluidas, en las que la fuerza iónica es mínima, los iones están suficientemente separados de forma que sus comportamientos no se ven afectados entre sí. En esta situación, la efectividad de un ion común en la posición del equilibrio depende sólo de su concentración molar y es independiente del resto de los iones. En estas circunstancias, el coeficiente de actividad se hace igual a la unidad y $[X]$ y a en la Ecuación a2-1 son idénticas. Cuando la fuerza iónica aumenta, el comportamiento de un ion individual está influido por los iones vecinos más cercanos. El resultado es una disminución en la efectividad del ion para alterar la posición del equilibrio químico. Su coeficiente de actividad, entonces, se hace menor que la unidad. Este comportamiento se puede resumir en términos de la Ecuación a2-1. Para fuerzas iónicas moderadas, $\gamma_X < 1$; a medida que la disolución se aproxima a dilución infinita ($\mu \rightarrow 0$), $\gamma_X \rightarrow 1$ y por tanto $a_X \rightarrow [X]$.

Para fuerzas iónicas elevadas, los coeficientes de actividad de algunas especies aumentan y pueden incluso llegar a ser mayores que uno. El comportamiento de tales disoluciones es difícil de interpretar; la discusión se limitará a regiones de baja a moderada fuerza iónica (o sea, en las que $\mu < 0,1$). En la Figura a2-1 se muestra la variación de algunos coeficientes de actividad característicos en función de la fuerza iónica.

2. En las disoluciones diluidas, el coeficiente de actividad de una especie dada es independien-

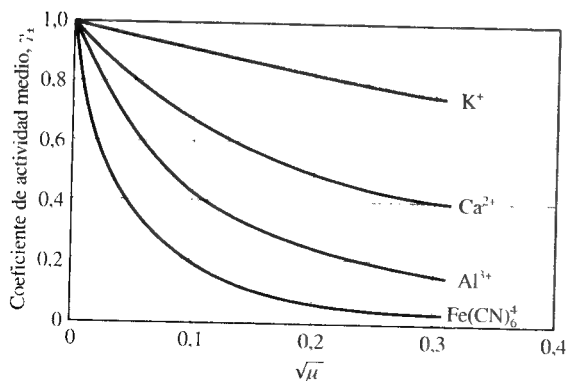


Figura a2-1. Efecto de la fuerza iónica en los coeficientes de actividad.

te de la naturaleza específica del electrólito y depende sólo de la fuerza iónica.

3. Para una fuerza iónica dada, el coeficiente de actividad de un ion se desvía más de la unidad a medida que la carga que lleva la especie aumenta. Este efecto se muestra en la Figura a2-1. El coeficiente de actividad de una molécula no cargada es aproximadamente uno, independientemente de la fuerza iónica.
4. Los coeficientes de actividad de iones con la misma carga son aproximadamente los mismos a cualquier fuerza iónica dada.
5. El producto del coeficiente de actividad por la concentración molar de un ion dado describe su comportamiento efectivo en todos los equilibrios en los que participa.

a2B. EVALUACIÓN EXPERIMENTAL DE LOS COEFICIENTES DE ACTIVIDAD

Aunque los coeficientes de actividad de los iones individuales se pueden calcular a partir de consideraciones teóricas, su medida experimental es, por desgracia, imposible. En su lugar, sólo puede obtenerse un coeficiente de actividad medio para las especies de la disolución cargadas positiva y negativamente.

Para el electrólito $A_m B_n$, el coeficiente de actividad medio $\gamma_{\pm}$ se define por la ecuación

$$\gamma_{\pm} = (\gamma_A^m \gamma_B^n)^{1/(m+n)}$$

El coeficiente de actividad medio puede medirse de distintas maneras, pero es imposible experimentalmente resolver este término en los coeficientes de actividad individuales γ_A y γ_B . Por ejemplo, si $A_m B_n$ es un precipitado, podemos escribir

$$\begin{aligned} K_{sp} &= [A]^m [B]^n \gamma_A^m \gamma_B^n \\ &= [A]^m [B]^n \gamma_{\pm}^{m+n} \end{aligned}$$

Midiendo la solubilidad de $A_m B_n$ en una disolución en la que la concentración de electrólito se aproxima a cero (esto es, cuando γ_A y $\gamma_B \rightarrow 1$), se puede obtener K_{sp} . Una segunda medida de la solubilidad a cierta fuerza iónica, μ_1 proporcionaría los valores de $[A]$ y $[B]$. Estos datos permitirían entonces el cálculo de $\gamma_{\pm}^{m+n} = \gamma_{\pm}^{m+n} / \gamma_{\pm}^{m+n}$ a la fuerza iónica μ_1 . Sin embargo, es importante comprender que hay insu-

TABLA a2-1. Coeficientes de actividad de algunos iones a 25 °C^a

Ion	Coeficientes de actividad a las fuerzas iónicas indicadas					
	α_x , nm	0,001	0,005	0,01	0,05	0,1
H ₃ O ⁺	0,9	0,967	0,933	0,914	0,86	0,83
Li ⁺ , C ₆ H ₅ COO ⁻	0,6	0,965	0,929	0,907	0,84	0,80
Na ⁺ , IO ₃ ⁻ , HSO ₃ ⁻ , HCO ₃ ⁻ , H ₂ PO ₄ ⁻ , H ₂ AsO ₄ ⁻ , OAc ⁻	0,4-0,45	0,964	0,928	0,902	0,82	0,78
OH ⁻ , F ⁻ , SCN ⁻ , HS ⁻ , ClO ₃ ⁻ , ClO ₄ ⁻ , BrO ₃ ⁻ , IO ₄ ⁻ , MnO ₄ ⁻	0,35	0,964	0,926	0,900	0,81	0,76
K ⁺ , Cl ⁻ , Br ⁻ , I ⁻ , CN ⁻ , NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , HCOO ⁻	0,3	0,964	0,925	0,899	0,80	0,76
Rb ⁺ , Cs ⁺ , Tl ⁺ , Ag ⁺ , NH ₄ ⁺	0,25	0,964	0,924	0,898	0,80	0,75
Mg ²⁺ , Be ²⁺	0,8	0,872	0,755	0,69	0,52	0,45
Ca ²⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , Sn ²⁺ , Mn ²⁺ , Fe ²⁺ , Ni ²⁺ , Co ²⁺ , Ftalato ²⁻	0,6	0,870	0,749	0,675	0,48	0,40
Sr ²⁺ , Ba ²⁺ , Cd ²⁺ , Hg ²⁺ , S ²⁻	0,5	0,868	0,744	0,67	0,46	0,38
Pb ²⁺ , CO ₃ ²⁻ , SO ₃ ²⁻ , C ₂ O ₄ ²⁻	0,45	0,868	0,742	0,665	0,46	0,37
Hg ₂ ²⁺ , SO ₄ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , CrO ₄ ²⁻ , HPO ₄ ²⁻	0,40	0,867	0,740	0,660	0,44	0,36
Al ³⁺ , Fe ³⁺ , Cr ³⁺ , La ³⁺ , Ce ³⁺	0,9	0,738	0,54	0,44	0,24	0,18
PO ₄ ³⁻ , Fe(CN) ₆ ³⁻	0,4	0,725	0,50	0,40	0,16	0,095
Th ⁴⁺ , Zr ⁴⁺ , Ce ⁴⁺ , Sn ⁴⁺	1,1	0,588	0,35	0,255	0,10	0,065
Fe(CN) ₆ ⁴⁻	0,5	0,57	0,31	0,20	0,048	0,021

^a De J. Kielland, *J. Am. Chem. Soc.*, **1937**, 59, 1675. Cortesía de American Chemical Society.

ficientes datos experimentales para posibilitar el cálculo de las cantidades *individuales* γ_A y γ_B y no parece que pueda haber información experimental adicional que permita la evaluación de estas cantidades. Esta situación es general; la determinación *experimental* de los coeficientes de actividad individuales parece ser imposible.

a2C. LA ECUACIÓN DE DEBYE-HÜCKEL

En 1923, P. Debye y E. Hückel dedujeron la siguiente expresión teórica, que permite el cálculo de los coeficientes de actividad de los iones¹:

$$-\log \gamma_A = \frac{0,509 Z_A^2 \sqrt{\mu}}{1 + 3,28 z_A \sqrt{\mu}} \quad (\text{a2-3})$$

donde

- γ_A = coeficiente de actividad de la especie A
- Z_A = carga de la especie A
- μ = fuerza iónica de la disolución
- α_A = diámetro efectivo del ion hidratado en angstroms

Las constantes 0,509 y 0,328 se aplican cuando las disoluciones se encuentran a 25 °C; cuando las temperaturas son diferentes se deben utilizar otros valores.

Desafortunadamente, existe una considerable incertidumbre respecto a la magnitud de α_A para la Ecuación a2-3. Su valor para la mayoría de los iones con una sola carga parece ser de aproximadamente 3 Å, por lo que para estas especies, el denominador de la ecuación de Debye-Hückel se reduce a aproximadamente $(1 + \sqrt{\mu})$. Para iones con mayor carga, α_A puede ser superior a 10 Å. Debería tenerse en cuenta que, cuando la fuerza iónica es menor de 0,01, el segundo término del denominador es pequeño comparado con el primero; en esas

¹ P. Debye y E. Hückel, *Physik. Z.*, **1923**, 24, 185.

circunstancias, la incertidumbre en α_A es poco significativa en el cálculo de los coeficientes de actividad.

Kielland² ha calculado los valores de α_A para numerosos iones a partir de distintos datos experimentales. Sus «mejores valores» para los diámetros efectivos se dan en la Tabla a2-1, en la página anterior. También se presentan los coeficientes de actividad calculados a partir de la Ecuación a2-3 utilizando estos valores para el diámetro efectivo.

Para fuerzas iónicas hasta 0,01, los coeficientes de actividad de la ecuación de Debye-Hückel conducen a resultados en los cálculos de los equilibrios

que concuerdan mucho con los experimentales; incluso a fuerzas iónicas de 0,1, no se encuentran generalmente grandes discrepancias. Sin embargo, a fuerzas iónicas más altas, la ecuación falla, y se deben utilizar los coeficientes de actividad medios determinados experimentalmente. Desafortunadamente, muchos cálculos electroquímicos implican disoluciones de elevada fuerza iónica para las que no se dispone de coeficientes de actividad experimentales. Por tanto, hay que emplear concentraciones en lugar de actividades; deben esperarse incertidumbres que varían de unos porcentajes relativos bajos hasta un orden de magnitud.

² J. Kielland, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1937**, 59, 1675.

Apéndice 3

Algunos potenciales estándar y formales de electrodo

Semirreacción	E^0 , V ^a	Potencial formal, V ^b
Aluminio $\text{Al}^{3+} + 3\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Al(s)}$	-1,662	
Antimonio $\text{Sb}_2\text{O}_5(\text{s}) + 6\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{SbO}^+ + 3\text{H}_2\text{O}$	+0,581	
Arsénico $\text{H}_3\text{AsO}_4 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_3\text{AsO}_3 + \text{H}_2\text{O}$	+0,559	0,577 en HCl, HClO_4 1 M
Azufre $\text{S(s)} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{S(g)}$ $\text{H}_2\text{SO}_3 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightleftharpoons \text{S(s)} + 3\text{H}_2\text{O}$ $\text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{SO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ $\text{S}_4\text{O}_6^{2-} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ $\text{S}_2\text{O}_8^{2-} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{SO}_4^{2-}$	+0,141 +0,450 +0,172 +0,08 +2,01	
Bario $\text{Ba}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ba(s)}$	-2,906	
Bismuto $\text{BiO}^+ + 2\text{H}^+ + 3\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Bi(s)} + \text{H}_2\text{O}$ $\text{BiCl}_4^- + 3\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Bi(s)} + 4\text{Cl}^-$	+0,320 +0,16	
Bromo $\text{Br}_2(\text{l}) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Br}^-$ $\text{Br}_2(\text{ac}) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Br}^-$ $\text{BrO}_3^- + 6\text{H}^+ + 5\text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{Br}_2(\text{l}) + 3\text{H}_2\text{O}$ $\text{BrO}_3^- + 6\text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Br}^- + 3\text{H}_2\text{O}$	+1,065 +1,087 ^c +1,52 +1,44	1,05 en HCl 4 M

Continúa

Semirreacción	E^0, V^a	Potencial formal, V^b
Cadmio $Cd^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Cd(s)$	-0,403	
Calcio $Ca^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Ca(s)$	-2,866	
Carbono $C_6H_4O_2$ (quinona) + $2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons C_6H_4(OH)_2$ $2CO_2(g) + 2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2C_2O_4$	+0,699 -0,49	0,696 en HCl, HClO ₄ , H ₂ SO ₄ 1 M
Cerio $Ce^{4+} + e^- \rightleftharpoons Ce^{3+}$		+1,70 en HClO ₄ 1 M; +1,61 en HNO ₃ 1 M +1,44 en H ₂ SO ₄ 1 M
Cinc $Zn^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Zn(s)$	-0,763	
Cloro $Cl_2(g) + 2e^- \rightleftharpoons 2Cl^-$ $HClO + H^+ + e^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}Cl_2(g) + H_2O$ $ClO_3^- + 6H^+ + 5e^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}Cl_2(g) + 3H_2O$	+1,359 +1,63 +1,47	
Cobalto $Co^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Co(s)$ $Co^{3+} + e^- \rightleftharpoons Co^{2+}$	-0,277 +1,808	
Cobre $Cu^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Cu(s)$ $Cu^{2+} + e^- \rightleftharpoons Cu^+$ $Cu^+ + e^- \rightleftharpoons Cu(s)$ $Cu^{2+} + I^- + e^- \rightleftharpoons CuI(s)$ $CuI(s) + e^- \rightleftharpoons Cu(s) + I^-$	+0,337 +0,153 +0,521 +0,86 -0,185	
Cromo $Cr^{3+} + e^- \rightleftharpoons Cr^{2+}$ $Cr^{3+} + 3e^- \rightleftharpoons Cr(s)$ $Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ + 6e^- \rightleftharpoons 2Cr^{3+} + 7H_2O$	-0,408 -0,744 +1,33	
Estaño $Sn^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Sn(s)$ $Sn^{4+} + 2e^- \rightleftharpoons Sn^{2+}$	-0,136 +0,154	- 0,16 en HClO ₄ 1 M 0,14 en HCl 1 M
Flúor $F_2(g) + 2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons 2HF(ac)$	+3,06	
Hidrógeno $2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2(g)$	0,000	-0,005 en HCl, HClO ₄ 1 M
Hierro $Fe^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Fe(s)$ $Fe^{3+} + e^- \rightleftharpoons Fe^{2+}$ $Fe(CN)_6^{4-} + e^- \rightleftharpoons Fe(CN)_6^{3-}$	-0,440 +0,771 +0,36	0,700 en HCl 1 M; 0,732 en HClO ₄ 1 M; 0,68 en H ₂ SO ₄ 1 M 0,71 en HCl 1 M; 0,72 en HClO ₄ , H ₂ SO ₄ 1 M

Continúa

Semirreacción	E^0 , V ^a	Potencial formal, V ^b
Litio		
$\text{Li}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{Li}(s)$	-3,045	
Magnesio		
$\text{Mg}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Mg}(s)$	-2,363	
Manganeso		
$\text{Mn}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Mn}(s)$	-1,180	
$\text{Mn}^{3+} + e^- \rightleftharpoons \text{Mn}^{2+}$		1,51 en H_2SO_4 7,5 M
$\text{MnO}_2(s) + 4\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{Mn}^{2+} + 2\text{H}_2\text{O}$	+1,23	
$\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5e^- \rightleftharpoons \text{Mn}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O}$	+1,51	
$\text{MnO}_4^- + 4\text{H}^+ + 3e^- \rightleftharpoons \text{MnO}_2(s) + 2\text{H}_2\text{O}$	+1,695	
$\text{MnO}_4^- + e^- \rightleftharpoons \text{MnO}_4^{2-}$	+0,564	
Mercurio		
$\text{Hg}_2^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{Hg}(l)$	+0,788	0,274 en HCl 1 M; 0,776 en HClO_4 1 M; 0,674 en H_2SO_4 1 M
$2\text{Hg}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Hg}_2^{2+}$	+0,920	0,907 en HClO_4 1 M
$\text{Hg}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Hg}(l)$	+0,854	
$\text{Hg}_2\text{Cl}_2(s) + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{Hg}(l) + 2\text{Cl}^-$	+0,268	0,244 en KCl sat; 0,282 en KCl 1 M; 0,334 en KCl 0,1 M
$\text{Hg}_2\text{SO}_4(s) + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{Hg}(l) + \text{SO}_4^{2-}$	+0,615	
Níquel		
$\text{Ni}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Ni}(s)$	-0,250	
Nitrógeno		
$\text{N}_2(g) + 5\text{H}^+ + 4e^- \rightleftharpoons \text{N}_2\text{H}_5^+$	-0,23	
$\text{HNO}_2 + \text{H}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{NO}(g) + \text{H}_2\text{O}$	+1,00	
$\text{NO}_3^- + 3\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{HNO}_2 + \text{H}_2\text{O}$	+0,94	0,92 en HNO_3 1 M
Oxígeno		
$\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{H}_2\text{O}$	+1,776	
$\text{HO}_2^- + \text{H}_2\text{O} + 2e^- \rightleftharpoons 3\text{OH}^-$	+0,88	
$\text{O}_2(g) + 4\text{H}^+ + 4e^- \rightleftharpoons 2\text{H}_2\text{O}$	+1,229	
$\text{O}_2(g) + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}_2$	+0,682	
$\text{O}_3(g) + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{O}_2(g) + \text{H}_2\text{O}$	+2,07	
Paladio		
$\text{Pd}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Pd}(s)$	+0,987	
Plata		
$\text{Ag}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{Ag}(s)$	+0,799	0,228 en HCl 1 M; 0,792 en HClO_4 1 M; 0,77 en H_2SO_4 1 M
$\text{AgBr}(s) + e^- \rightleftharpoons \text{Ag}(s) + \text{Br}^-$	+0,073	
$\text{AgCl}(s) + e^- \rightleftharpoons \text{Ag}(s) + \text{Cl}^-$	+0,222	0,228 en KCl 1 M
$\text{Ag}(\text{CN})_2 + e^- \rightleftharpoons \text{Ag}(s) + 2\text{CN}^-$	-0,31	
$\text{Ag}_2\text{CrO}_4(s) + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{Ag}(s) + \text{CrO}_4^{2-}$	+0,446	
$\text{AgI}(s) + e^- \rightleftharpoons \text{Ag}(s) + \text{I}^-$	-0,151	
$\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-} + e^- \rightleftharpoons \text{Ag}(s) + 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	+0,017	

Continúa

Semirreacción	E^0 , V ^a	Potencial formal, V ^b
Platino		
$\text{PtCl}_4^{2-} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Pt}(s) + 4\text{Cl}^-$	+0,73	
$\text{PtCl}_6^{2-} + 2e^- \rightleftharpoons \text{PtCl}_4^{2-} + 2\text{Cl}^-$	+0,68	
Plomo		
$\text{Pb}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Pb}(s)$	-0,126	-0,14 en HClO_4 1 M; -0,29 en H_2SO_4 1 M
$\text{PbO}_2(s) + 4\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{Pb}^{2+} + 2\text{H}_2\text{O}$	+1,455	
$\text{PbSO}_4(s) + 2e^- \rightleftharpoons \text{Pb}(s) + \text{SO}_4^{2-}$	-0,350	
Potasio		
$\text{K}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{K}(s)$	-2,925	
Selenio		
$\text{H}_2\text{SeO}_3 + 4\text{H}^+ + 4e^- \rightleftharpoons \text{Se}(s) + 3\text{H}_2\text{O}$	+0,740	
$\text{SeO}_4^{2-} + 4\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{SeO}_3 + \text{H}_2\text{O}$	+1,15	
Sodio		
$\text{Na}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{Na}(s)$	-2,714	
Talio		
$\text{Tl}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{Tl}(s)$	-0,336	-0,551 en HCl 1 M; -0,33 en HClO_4 , H_2SO_4 1 M
$\text{Tl}^{3+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Tl}^+$	+1,25	0,77 en HCl 1 M
Titanio		
$\text{Ti}^{3+} + e^- \rightleftharpoons \text{Ti}^{2+}$	-0,369	
$\text{TiO}^{2+} + 2\text{H}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{Ti}^{3+} + \text{H}_2\text{O}$	+0,099	0,04 en H_2SO_4 1 M
Uranio		
$\text{UO}_2^{2+} + 4\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{U}^{4+} + 2\text{H}_2\text{O}$	+0,334	
Vanadio		
$\text{V}^{3+} + e^- \rightleftharpoons \text{V}^{2+}$	-0,256	0,21 en HClO_4 1 M
$\text{VO}^{2+} + 2\text{H}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{V}^{3+} + \text{H}_2\text{O}$	+0,359	
$\text{V}(\text{OH})_4^+ + 2\text{H}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{VO}^{2+} + 3\text{H}_2\text{O}$	+1,00	1,02 en HCl , HClO_4 1 M
Yodo		
$\text{I}_2(s) + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{I}^-$	+0,5355	
$\text{I}_2(ac) + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{I}^-$	+0,615 ^c	
$\text{I}_3^- + 2e^- \rightleftharpoons 3\text{I}^-$	+0,536	
$\text{ICl}_2^- + e^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{I}_2(s) + 2\text{Cl}^-$	+1,056	
$\text{IO}_3^- + 6\text{H}^+ + 5e^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{I}_2(s) + 3\text{H}_2\text{O}$	+1,196	
$\text{IO}_3^- + 6\text{H}^+ + 5e^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{I}_2(ac) + 3\text{H}_2\text{O}$	+1,178 ^c	
$\text{IO}_3^- + 2\text{Cl}^- + 6\text{H}^+ + 4e^- \rightleftharpoons \text{ICl}_2^- + 3\text{H}_2\text{O}$	+1,24	
$\text{H}_5\text{IO}_6 + \text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{IO}_3^- + 3\text{H}_2\text{O}$	+1,601	

^a G. Milazzo, S. Caroli y V. K. Sharma, *Tables of Standard Electrode Potentials*. London: Wiley, 1978.

^b E. H. Swift y E. A. Butler, *Quantitative Measurements and Chemical Equilibria*. New York: Freeman, 1972.

^c Estos potenciales son hipotéticos porque corresponden a disoluciones que son 1,00 M en Br_2 o I_2 . Las solubilidades de estos compuestos a 25 °C son, respectivamente, 0,18 y 0,0020 M. En soluciones saturadas que contienen un exceso de $\text{Br}_2(l)$ o $\text{I}_2(s)$, deberían usarse los potenciales estándar de la semirreacción $\text{Br}_2(l) + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{Br}^-$ o $\text{I}_2(s) + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{I}^-$. Por el contrario, a concentraciones de Br_2 e I_2 , menores que la de saturación, deberían utilizarse estos hipotéticos potenciales de electrodo.

Apéndice

4

Compuestos recomendados para la preparación de disoluciones patrón de algunos elementos comunes^a

Elemento	Compuesto	PM	Disolvente ^b	Notas
Aluminio	Al metal	26,98	HCl cal. dil.	a
Antimonio	KSbOC ₄ H ₄ O ₆ · 1/2H ₂ O	333,93	H ₂ O	c
Arsénico	As ₂ O ₃	197,84	HCl dil.	i, b, d
Azufre	K ₂ SO ₄	174,27	H ₂ O	
Bario	BaCO ₃	197,35	HCl dil.	
Bismuto	Bi ₂ O ₃	465,96	HNO ₃	
Boro	H ₃ BO ₃	61,83	H ₂ O	d, e
Bromo	KBr	119,01	H ₂ O	a
Cadmio	CdO	128,40	HNO ₃	
Calcio	CaCO ₃	100,09	HCl dil.	i
Cerio	(NH ₄) ₂ Ce(NO ₃) ₆	548,23	H ₂ SO ₄	
Cinc	ZnO	81,37	HCl	a
Cobalto	Co metal	58,93	HNO ₃	a
Cobre	Cu metal	63,55	HNO ₃ dil.	a
Cromo	K ₂ Cr ₂ O ₇	294,19	H ₂ O	i, d
Estaño	Sn metal	118,69	HCl	
Estroncio	SrCO ₃	147,63	HCl	a
Flúor	NaF	41,99	H ₂ O	b
Fósforo	KH ₂ PO ₄	136,09	H ₂ O	
Hierro	Fe metal	55,85	HCl, cal.	a
Lantano	La ₂ O ₃	325,82	HCl, cal.	f
Litio	Li ₂ CO ₃	73,89	HCl	a
Magnesio	MgO	40,31	HCl	
Manganeso	MnSO ₄ · H ₂ O	169,01	H ₂ O	g
Mercurio	HgCl ₂	271,50	H ₂ O	b

Continúa

Elemento	Compuesto	PM	Disolvente ^b	Notas
Molibdeno	MoO ₃	143,94	1 M NaOH	
Níquel	Ni metal	58,70	HNO ₃ , cal.	a
Plata	AgNO ₃	169,87	H ₂ O	a
Plomo	Pb(NO ₃) ₂	331,20	H ₂ O	a
Potasio	KCl	74,56	H ₂ O	a
	KHC ₈ H ₄ O ₄	204,23	H ₂ O	i, d
	K ₂ Cr ₂ O ₇	294,19	H ₂ O	i, d
Silicio	Si metal	28,09	NaOH, conc.	
	SiO ₂	60,08	HF	j
Sodio	NaCl	58,44	H ₂ O	i
	Na ₂ C ₂ O ₄	134,00	H ₂ O	i, d
Titanio	Ti metal	47,90	H ₂ SO ₄ , 1:1	a
Uranio	U ₃ O ₈	842,09	HNO ₃	d
Vanadio	V ₂ O ₅	181,88	HCl, cal.	
Wolframio	Na ₂ WO ₄ · 2H ₂ O	329,86	H ₂ O	h
Yodo	KIO ₃	214,00	H ₂ O	i

^a Los datos de esta tabla se han obtenido de una lista más completa recopilada por B. W. Smith y M. L. Parsons. *J. Chem. Educ.*, **1973**, 50, 679. A menos que se indique, los compuestos deben desecarse a 110 °C hasta peso constante.

^b A menos que se especifique, los ácidos concentrados son de calidad para análisis.

a Se aproxima a la calidad de un patrón primario.

b Muy tóxico.

c Pierde ½ molécula de H₂O a 110 °C. Después de desecarlo, pm = 324,92. El compuesto desecado debe pesarse rápidamente cuando se saca del desecador.

d Disponible como patrón primario a través del National Institute of Standards and Technology.

e El H₃BO₃ debe pesarse directamente de la botella. Pierde 1 molécula de H₂O a 100 °C y es difícil desecarlo hasta peso constante.

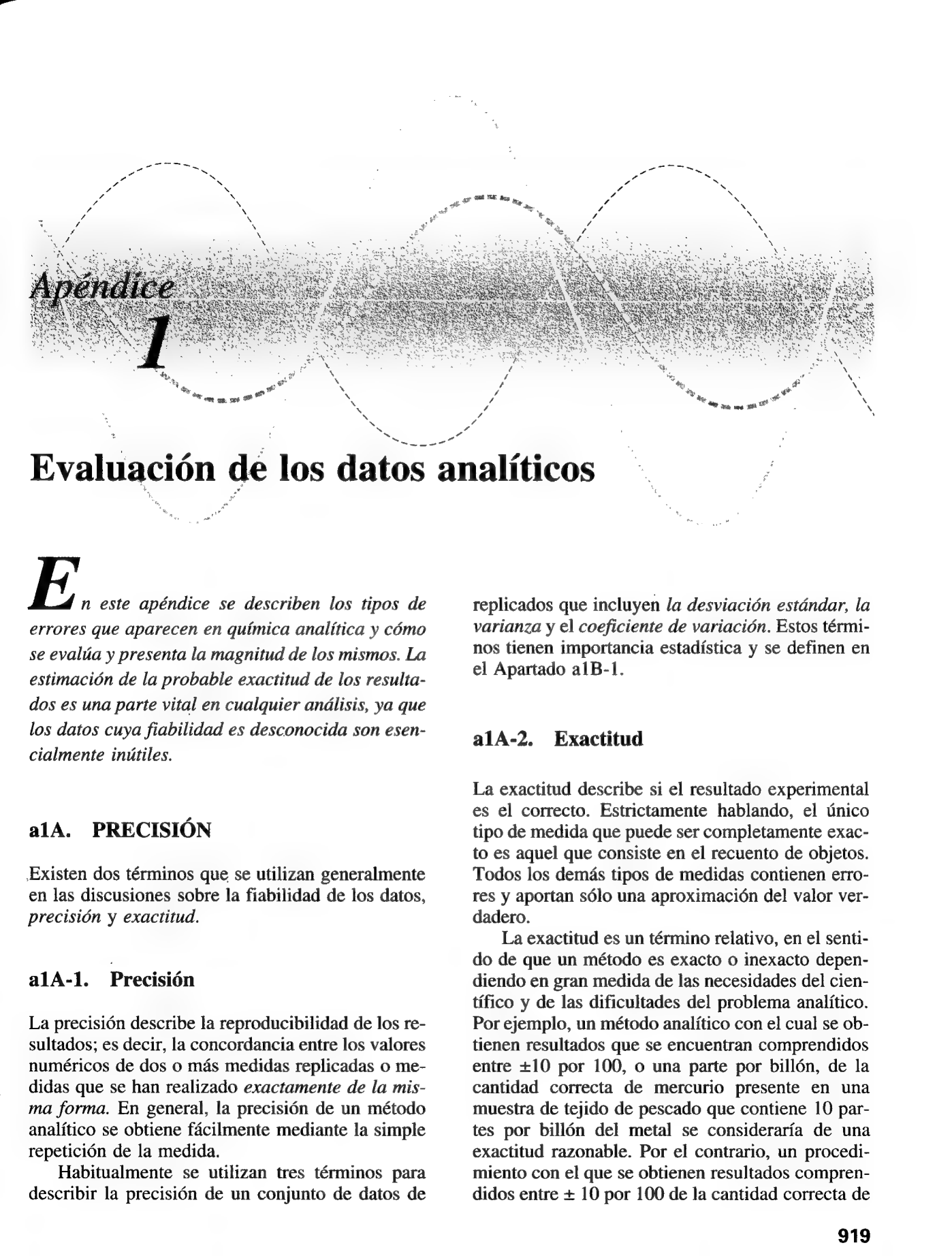
f Absorbe CO₂ y H₂O. Debería calcinarse justo antes de usarlo.

g Puede desecarse a 110 °C sin que pierda agua.

h Pierde las dos moléculas de agua a 110 °C, pm = 293,82. Después de desecarlo, guardarlo en el desecador.

i Patrón primario.

j El HF es muy tóxico y ataca al vidrio.



Apéndice 1

Evaluación de los datos analíticos

En este apéndice se describen los tipos de errores que aparecen en química analítica y cómo se evalúa y presenta la magnitud de los mismos. La estimación de la probable exactitud de los resultados es una parte vital en cualquier análisis, ya que los datos cuya fiabilidad es desconocida son esencialmente inútiles.

a1A. PRECISIÓN

Existen dos términos que se utilizan generalmente en las discusiones sobre la fiabilidad de los datos, *precisión* y *exactitud*.

a1A-1. Precisión

La precisión describe la reproducibilidad de los resultados; es decir, la concordancia entre los valores numéricos de dos o más medidas replicadas o medidas que se han realizado *exactamente de la misma forma*. En general, la precisión de un método analítico se obtiene fácilmente mediante la simple repetición de la medida.

Habitualmente se utilizan tres términos para describir la precisión de un conjunto de datos de

replicados que incluyen la *desviación estándar*, la *varianza* y el *coeficiente de variación*. Estos términos tienen importancia estadística y se definen en el Apartado a1B-1.

a1A-2. Exactitud

La exactitud describe si el resultado experimental es el correcto. Estrictamente hablando, el único tipo de medida que puede ser completamente exacto es aquel que consiste en el recuento de objetos. Todos los demás tipos de medidas contienen errores y aportan sólo una aproximación del valor verdadero.

La exactitud es un término relativo, en el sentido de que un método es exacto o inexacto dependiendo en gran medida de las necesidades del científico y de las dificultades del problema analítico. Por ejemplo, un método analítico con el cual se obtienen resultados que se encuentran comprendidos entre ± 10 por 100, o una parte por billón, de la cantidad correcta de mercurio presente en una muestra de tejido de pescado que contiene 10 partes por billón del metal se consideraría de una exactitud razonable. Por el contrario, un procedimiento con el que se obtienen resultados comprendidos entre ± 10 por 100 de la cantidad correcta de

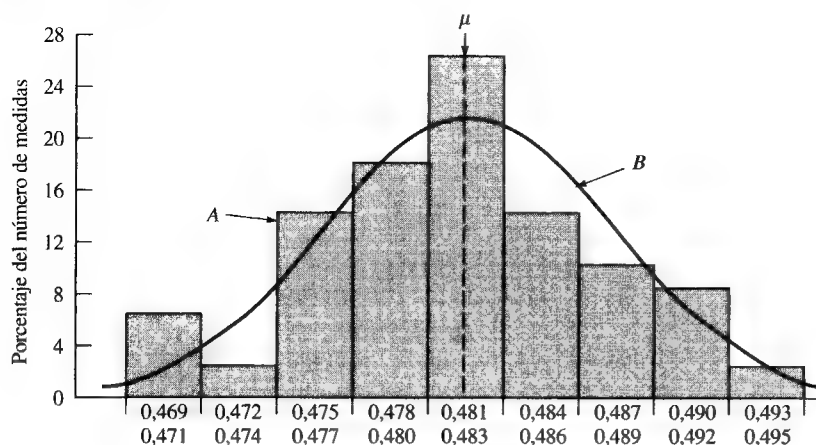


Figura a1-1. A, histograma que muestra la distribución de los 50 resultados que aparecen en la Tabla a1-1. B, curva gaussiana correspondiente a unos datos que tienen la misma media y la misma desviación estándar que los datos mostrados en A.

mercurio presente en un mineral que contiene el 20 por 100 del metal, normalmente se juzgaría como inaceptable por inexacto.

La exactitud se expresa en términos de errores absolutos y relativos. El *error absoluto* E_a de la media (o promedio) $\bar{x}$ del análisis de un pequeño conjunto de replicados se expresa mediante la relación

$$E_a = \bar{x} - x_i \quad (\text{a1-1})$$

donde x_i es el valor aceptado (como verdadero) de la cantidad medida. Con frecuencia, es útil expresar la exactitud en términos de *error relativo*, donde

$$\text{error relativo} = \frac{\bar{x} - x_i}{x_i} \times 100 \% \quad (\text{a1-2})$$

Como se ve, es habitual expresar el error relativo como un porcentaje (%); en otros casos, el cociente se multiplica por 1.000 para dar el error en tanto por mil (‰).

Obsérvese que ambos errores, absoluto y relativo, llevan un signo positivo para indicar que el resultado medido es mayor que el valor verdadero y un signo negativo en el caso contrario.

Nosotros nos encontraremos con dos tipos de errores, *errores aleatorios o indeterminados* y *errores sistemáticos o determinados*¹. El error en

la media de un conjunto de replicados es la suma de estos dos tipos de errores:

$$E_a = E_r + E_s \quad (\text{a1-3})$$

donde E_r es el error aleatorio asociado con la medida y E_s es el error sistemático.

Errores aleatorios

Siempre que en una misma muestra se repiten las medidas analíticas, se obtiene una dispersión de los datos similar a la que se muestra en la Tabla a1-1, debido a la presencia de errores aleatorios o indeterminados, dicho de otra forma, la presencia de errores aleatorios se refleja en la imprecisión de los datos. Los datos de las columnas 2, 4 y 6 de la tabla son las absorbancias (Apartado 12A), obtenidas con un espectrofotómetro, de 50 replicados de disoluciones de color rojo producidas al tratar muestras acuosas idénticas que contienen 10 ppm de Fe(III) con un exceso de ion tiocianato. Las absorbancias medidas son directamente proporcionales a la concentración de hierro.

La distribución de los errores aleatorios de estos datos se comprende mejor si éstos se organizan en grupos de datos contiguos, de igual tamaño, o *celdas*, como se muestra en la Tabla a1-2. La frecuencia relativa de la aparición de los datos en cada celda se representa en la Figura a1-1A dando un diagrama de barras llamado *histograma*.

de muestra, utilización equivocada de la escala del medidor, introducción accidental de contaminantes y cambios de signo al leer los instrumentos. Un error grueso de un conjunto de medidas repetidas aparecerá como un resultado *discordante*, un dato que es muy diferente del resto del conjunto. En esta discusión no se considerarán los errores gruesos.

¹ Un tercer tipo de error, que se encuentra en ocasiones, son los *errores gruesos*, los cuales surgen en la mayoría de los casos por la falta de cuidado, ineptitud, indolencia o mala suerte del experimentador. Algunas causas típicas de estos errores incluyen: transposiciones de números al escribir los datos; pérdidas

TABLA a1-1. Replicados de medidas de absorbancia^a

Prueba	Absorbancia, A	Prueba	Absorbancia, A	Prueba	Absorbancia, A
1	0,488	18	0,475	35	0,476
2	0,480	19	0,480	36	0,490
3	0,486	20	0,494 ^b	37	0,488
4	0,473	21	0,492	38	0,471
5	0,475	22	0,484	39	0,486
6	0,482	23	0,481	40	0,478
7	0,486	24	0,487	41	0,486
8	0,482	25	0,478	42	0,482
9	0,481	26	0,483	43	0,477
10	0,490	27	0,482	44	0,477
11	0,480	28	0,491	45	0,486
12	0,489	29	0,481	46	0,478
13	0,478	30	0,469 ^c	47	0,483
14	0,471	31	0,485	48	0,480
15	0,482	32	0,477	49	0,483
16	0,483	33	0,476	50	0,479
17	0,488	34	0,483		

Absorbancia media = 0,482
Desviación estándar = 0,0056

^a Datos listados en el orden obtenido.^b Valor máximo.^c Valor mínimo.

Es razonable suponer que si el número de análisis fuera mucho mayor que el mostrado en la Tabla a1-2 y si el tamaño de cada celda fuese mucho más pequeño, obtendríamos una curva lisa, sin escalones, tal como la que se muestra en la Figura a1-1B. Una curva de este tipo se llama *curva gaussiana*, o *curva normal de error*. Se ha encontrado empíricamente que los resultados de análisis químicos replicados se distribuyen con frecuencia de una forma próxima a la gaussiana, o normal.

La frecuencia de distribución que presenta una curva gaussiana tiene las siguientes características:

1. El resultado que se observa con mayor frecuencia es la media μ del conjunto de los datos.
2. Los resultados se agrupan de forma simétrica alrededor del valor medio.
3. Es más frecuente encontrar pequeñas divergencias respecto al valor medio central que grandes divergencias.
4. En ausencia de errores sistemáticos, la media de un conjunto de datos grande se aproxima al valor verdadero.

La cuarta característica significa que, en principio, es siempre posible reducir el error aleatorio de un análisis a un valor próximo a cero. Sin embargo, en raras ocasiones es práctico alcanzar esta meta,

desafortunadamente, ya que para conseguirlo es necesario analizar 20 o más replicados. Normalmente, el científico sólo tiene tiempo para realizar dos o tres replicados, y con un número tan pequeño de replicados es de esperar un error aleatorio significativo en la media.

Los estadísticos normalmente utilizan μ para representar la media de una colección infinita de datos (véase Fig. a1-1B) y $\bar{x}$ para la media de un conjunto pequeño de replicados. El error aleatorio E_r de la media para un conjunto pequeño viene dado por

$$E_r = \bar{x} - \mu \quad (\text{a1-4})$$

La media para un conjunto finito de datos se acerca rápidamente a la media verdadera cuando el número de medidas N aumenta por encima de 20 o 30. Así, como se muestra en el ejemplo siguiente, a veces se puede determinar el error aleatorio en un dato individual o en la media de un conjunto pequeño de datos.

EJEMPLO a1-1

Calcular el error aleatorio para (a) el segundo dato de la Tabla a1-1 y (b) la media de las tres primeras entradas de la misma tabla.

TABLA a1-2. Distribución de frecuencias de los datos que aparecen en la Tabla a1-1

Intervalo de absorbancia A	Número de medidas dentro del intervalo y	Frecuencia relativa, y/N^a
0,469 a 0,471	3	0,06
0,472 a 0,474	1	0,02
0,475 a 0,477	7	0,14
0,478 a 0,480	9	0,18
0,481 a 0,483	13	0,26
0,484 a 0,486	7	0,14
0,487 a 0,489	5	0,10
0,490 a 0,492	4	0,08
0,493 a 0,495	1	0,02

^a N = número total de medidas = 50.

La media para el conjunto completo de datos es 0,482 y, como ésta es la media de 50 medidas, se puede asumir que el error aleatorio de dicha media es aproximadamente cero. Así, puede tomarse como valor límite μ 0,482.

- (a) Aquí, el error aleatorio para una sola medida x_2 es

$$E_r = x_2 - \mu = 0,480 - 0,482 = -0,002$$

- (b) La media $\bar{x}$ para las tres primeras entradas de la tabla es

$$\bar{x} = \frac{0,488 + 0,480 + 0,486}{3} = 0,485$$

Sustituyendo en la Ecuación a1-4, da

$$E_r = \bar{x} - \mu = 0,485 - 0,482 = +0,003$$

La naturaleza aleatoria de los errores indeterminados hace posible tratarlos por métodos estadísticos. Las técnicas estadísticas se consideran en el Apartado a1B.

Errores sistemáticos. Sesgo

Los errores sistemáticos tienen un valor definido, tienen una causa asignable y son del mismo signo y magnitud para todos aquellos replicados que se analizan de la misma forma. Los errores sistemáticos llevan a un *sesgo* en la técnica de medida. El sesgo se ilustra mediante dos curvas en la Figura a1-2, que muestra la distribución de frecuencias de los resultados de los replicados en el análisis de

muestras idénticas por dos métodos que tienen errores aleatorios de idéntico tamaño. El método A no tiene sesgo, por tanto, la media límite es el valor verdadero x_r , el método B tiene un sesgo que viene dado por

$$\text{sesgo} = \mu_B - x_r = \mu_B - \mu_A \quad (\text{a1-5})$$

Obsérvese que el sesgo afecta a todos los datos del conjunto y que lleva signo.

Los errores sistemáticos son de tres tipos: *instrumentales*, *personales* y *del método*.

Errores instrumentales. Las fuentes típicas de errores instrumentales incluyen la deriva en los circuitos eléctricos, las fugas en los sistemas de vacío, los efectos de la temperatura en los detectores, las corrientes inducidas en los circuitos de las líneas de corriente de 110 V, el descenso de la tensión en los bornes de las baterías con el uso y los errores de calibración en los medidores, pesas y equipos volumétricos.

Normalmente, los errores instrumentales sistemáticos se detectan y se corrigen mediante la calibración con patrones adecuados. Siempre es deseable una calibración periódica de los instrumentos porque la respuesta de la mayoría de los instrumentos cambia con el tiempo como consecuencia del uso, corrosión o trato inadecuado.

Errores personales. Los errores personales son aquellos que se introducen en una medida como consecuencia de los criterios que debe adoptar el analista. Como ejemplos se incluyen la estimación de la posición de un indicador entre dos divisiones de la escala, el color de una disolución en el punto

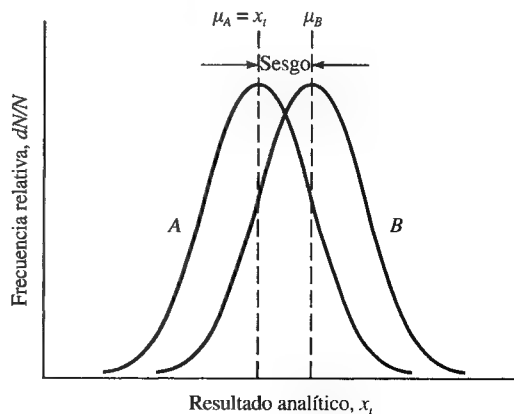


Figura a1-2. Ilustración del sesgo $= \mu_B - \mu_A = \mu_B - x_r$.

final de una valoración, el nivel de líquido respecto a la graduación en una pipeta o la intensidad relativa de dos haces de luz. Las decisiones de este tipo están, a menudo, sujetas a incertidumbres sistemáticas, unidireccionales. Por ejemplo, una persona puede leer un indicador alto de forma persistente, otra puede ser ligeramente lenta al activar el cronómetro y una tercera puede ser menos sensible al color. La ceguera al color u otros impedimentos físicos suelen agravar determinados errores personales.

El sesgo numérico es otra fuente de error sistemático personal que aparece a menudo y varía considerablemente de una persona a otra. El sesgo encontrado con mayor frecuencia al estimar la posición de la aguja en una escala es una preferencia por los dígitos 0 y 5. También es corriente la preferencia por los dígitos pequeños en lugar de los grandes e incluso de los pares sobre los impares.

Una fuente de error personal casi universal es el prejuicio. Muchos de nosotros, independiente de nuestra honestidad, tenemos una tendencia natural a estimar la lectura de la escala en la dirección que mejora la precisión del conjunto de resultados o en la que hace que el resultado sea próximo a una noción preconcebida del valor verdadero para la medida.

Gran parte de los errores personales pueden minimizarse poniendo cuidado y autodisciplina. Así, la mayoría de los científicos desarrollan el hábito de comprobar sistemáticamente por duplicado las lecturas de los instrumentos, las anotaciones en el cuaderno de notas y los cálculos. Los robots, los sistemas automatizados, la recogida de datos informatizada y el control de los instrumentos por ordenadores tienen la posibilidad de minimizar o eliminar los errores sistemáticos de tipo personal.

Errores de método. Los errores de método a menudo aparecen como consecuencia del comportamiento químico o físico no ideal de los reactivos y de las reacciones en las que se basa un análisis. Como posibles fuentes se incluyen las reacciones lentas o incompletas, las pérdidas por volatilidad, la adsorción del analito sobre sólidos, la inestabilidad de los reactivos, contaminantes e interferencias químicas.

Los errores sistemáticos de método son, generalmente, más difíciles de detectar y de corregir que los errores instrumentales y personales. La mejor forma y la más segura requiere la *validación* del método utilizado en el análisis de materiales de referencia que se parezcan a las muestras a analizar, tanto en su estado físico como en su composición química. Es

obvio que las concentraciones de los analitos de estos patrones deben conocerse con un alto grado de certeza. Para materiales sencillos, a veces los patrones se pueden preparar mezclando cantidades de compuestos puros medidas cuidadosamente. Desafortunadamente, los materiales a analizar suelen ser lo suficientemente complejos como para descartar esta sencilla solución.

El Instituto Nacional de Estándares y Tecnología², pone a la venta una variedad de *materiales de referencia certificados* (SRMs) que se han preparado específicamente para la validación de métodos analíticos³. La concentración de uno o más de los componentes de estos materiales se ha determinado por (1) un método de referencia previamente validado, (2) dos o más métodos de medida fiables e independientes, o (3) el análisis por una red de laboratorios de cooperación, técnicamente competentes y muy familiarizados con el material a examinar. La mayoría de los materiales de referencia certificados son sustancias que se encuentran por lo común en el comercio o en estudios medioambientales, de contaminación, clínicos, biológicos o forenses. Algunos ejemplos incluyen elementos traza en carbón, combustibles, partículas de material urbano, sedimentos de estuarios y aguas; plomo en muestras de sangre; colesterol en suero humano; drogas de abuso en orina; y una gran variedad de elementos en rocas, minerales y vidrios. Además, varias casas comerciales suministradoras ofrecen ahora una variedad de materiales analizados para la verificación del método⁴.

a1B. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS ERRORES ALEATORIOS

Los datos, aleatoriamente distribuidos, del tipo descrito en el apartado titulado Errores aleatorios se ana-

² En 1989, el nombre de National Bureau of Standards (NBS) se cambió por el de National Institute of Standards and Technology (NIST). Todavía hoy, varias de las publicaciones del NIST llevan el antiguo nombre de NBS. Es posible disponer de información sobre el NIST, sus productos y sus servicios en el World Wide Web en <http://nvl.nist.gov/>.

³ Véase U.S. Department of Commerce, *NIST Standard Reference Materials Catalog* 1995-96, NIST Special Publication 260. Washington, DC: Government Printing Office, 1995. La versión actual del catálogo está disponible en el lugar del World Wide Web mencionado en el pie de página número 2. Para una descripción del programa de materiales de referencia del NIST, véase R. A. Álvarez, S. D. Rasberry y G. A. Uriano, *Anal. Chem.*, **1982**, *54*, 1226A; y G. A. Uriano, *ASTM Standardization News*, **1979**, *7*, 8.

⁴ Véase C. Veillon, *Anal. Chem.*, **1986**, *58*, 851A.

lizan convenientemente mediante técnicas estadísticas, que se consideran en los próximos apartados⁵.

a1B-1. Poblaciones y muestras

En el tratamiento estadístico de datos se asume que el grupo de resultados experimentales obtenidos en el laboratorio es una fracción diminuta del número infinito de resultados que podrían obtenerse, en principio, si se dispusiera de un tiempo infinito y de una cantidad de muestra infinita. Los estadísticos llaman a este grupo de datos una *muestra* y la consideran como un subconjunto de una *población* infinita, o *universo*. Las leyes estadísticas sólo se pueden aplicar estrictamente a poblaciones; cuando estas leyes se aplican a una muestra de datos de laboratorio, se tiene que asumir que la muestra es verdaderamente representativa de la población. Como no hay seguridad de que esta suposición sea válida, las afirmaciones acerca de los errores aleatorios son necesariamente inciertas y deben expresarse en términos de probabilidades.

Definiciones de algunos términos estadísticos

Media de la población (μ). La *media de la población* o *media límite*, de un conjunto de replicados se define mediante la ecuación

$$\mu = \lim_{N \rightarrow \infty} \frac{\sum_{i=0}^N x_i}{N} \quad (\text{a1-6})$$

donde x_i representa el valor de la i -ésima medida. Como indica esta ecuación, la media de un conjunto de medidas se aproxima a la media de la población cuando N , el número de medidas, tiende a infinito. Es importante añadir que en ausencia de sesgo, μ es el valor verdadero de la cantidad medida.

Desviación estándar de la población (σ) y varianza de la población (σ^2). La desviación estándar de una población y la varianza de la población proporcionan medidas estadísticamente significativas de la precisión de los datos de una

población. La desviación estándar de la población viene dada por la ecuación

$$\sigma = \sqrt{\lim_{N \rightarrow \infty} \frac{\sum_{i=0}^N (x_i - \mu)^2}{N}} \quad (\text{a1-7})$$

donde x_i representa, de nuevo, el valor de la i -ésima medida. Obsérvese que la desviación estándar de la población es la raíz cuadrática media de las *desviaciones individuales respecto de la media*, para la población.

Los estadísticos prefieren expresar la precisión de los datos en términos de *varianza*, que es simplemente el cuadrado de la desviación estándar (σ^2), porque las varianzas son aditivas. Es decir, si en un sistema hay n fuentes independientes de error aleatorio, entonces la varianza total σ_t^2 vendrá dada por la relación

$$\sigma_t^2 = \sigma_1^2 + \sigma_2^2 + \cdots + \sigma_n^2 \quad (\text{a1-8})$$

donde $\sigma_1^2, \sigma_2^2, \dots, \sigma_n^2$ son las varianzas individuales de cada fuente de error.

Los químicos, generalmente prefieren describir la precisión de las medidas en términos de desviación estándar en lugar de varianza porque la desviación estándar tiene las mismas unidades que la propia medida.

Media de la muestra ($\bar{x}$). La *media de la muestra* es la media o promedio de un conjunto finito de datos. Como N , en este caso, es un número finito, $\bar{x}$ difiere, con frecuencia, de la media de la población μ , y, como consecuencia, difiere del verdadero valor de la cantidad medida. El uso de un símbolo diferente para la media de la muestra enfatiza esta importante distinción.

Desviación estándar de la muestra (s) y varianza de la muestra (s^2). La *desviación estándar* (s) para una muestra de datos de tamaño limitado viene dada por la ecuación

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}} \quad (\text{a1-9})$$

Obsérvese que la desviación estándar de la muestra difiere en tres aspectos de la desviación

⁵ Para un tratamiento estadístico más detallado, véase R. Calcutt y R. Boddy, *Statistics for Analytical Chemistry*. New York: Chapman y Hall, 1983; J. Mandel, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.^a ed., I. M. Kolthoff y P. J. Elving, Eds., Parte I, Vol. 1, Capítulo 5. New York: Wiley, 1978; R. L. Anderson, *Practical Statistics for Analytical Chemistry*, New York: Van Nostrand Reinhold, 1987.

estándar de la población, como se definió en la Ecuación a1-7. Primero, σ se ha reemplazado por s , con el objetivo de enfatizar la diferencia entre los dos términos. Segundo, la media verdadera μ , se ha reemplazado por $\bar{x}$, la media de la muestra. Finalmente, en el denominador aparece $(N - 1)$ que se define como el *número de grados de libertad*, en lugar de N^6 .

Desviación estándar relativa (RSD) y coeficiente de variación (CV). Las desviaciones estándar relativas, suelen proporcionar más información que las desviaciones estándar absolutas. La desviación estándar relativa de los datos de una muestra viene dada por

$$\text{RSD} = \frac{s}{\bar{x}} \times 10^z \quad (\text{a1-10})$$

Cuando $z = 2$, la desviación estándar relativa se expresa en porcentaje (%); cuando es igual a 3, la desviación se da en tanto por mil (‰). La desviación estándar relativa, expresada como un porcentaje, también se conoce como el *coeficiente de variación (CV)* de los datos. Es decir,

$$\text{CV} = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \% \quad (\text{a1-11})$$

En lo que concierne con una población de datos, en las Ecuación a1-10 y a1-11, se usan σ y μ en lugar de s y $\bar{x}$.

Una vía alternativa para el cálculo de las desviaciones estándar de la muestra. Al calcular s con una calculadora de bolsillo que no tenga la función desviación estándar, es algo más conveniente usar la siguiente expresión, idéntica a la Ecuación a1-9:

$$s = \sqrt{\frac{\sum x_i^2 - (\sum x_i)^2/N}{N - 1}} \quad (\text{a1-12})$$

⁶ Por definición, el número de grados de libertad es el número de datos que se mantienen independientes cuando se evalúa s . La desviación estándar de un conjunto de datos experimentales se calcula basándose en $(N - 1)$ grados de libertad, ya que en el cálculo se usa la media $\bar{x}$. Al sustituir la media y cualquier subconjunto de $(N - 1)$ datos en la ecuación algebraica de la media, puede calcularse el valor numérico del dato excluido. El hecho de que el valor numérico de cualquier dato puntual pueda calcularse a partir de los restantes y de la media, indica que siempre que se use la media en el cálculo posterior de cualquier parámetro estadístico se pierde un grado de libertad.

EJEMPLO a1-2

Los siguientes replicados se obtuvieron para la concentración de SO_2 en el aire próximo a una fábrica de papel: 1,96; 1,91; 1,88 y 1,94 partes por millón (ppm). Calcular (a) la media, (b) la desviación estándar absoluta, y (c) el coeficiente de variación de los datos.

ppm SO_2		
	x_i	x_i^2
x_1	1,96	3,8416
x_2	1,91	3,6481
x_3	1,88	3,5344
x_4	1,94	3,7636
	$\Sigma x_i = 7,69$	$\Sigma x_i^2 = 14,7877$

- (a) $\bar{x} = 7,69/4 = 1,9255 = 1,92$ ppm SO_2
 (b) Aplicando la Ecuación a1-12, se obtiene

$$\begin{aligned} s &= \sqrt{\frac{14,7877 - (7,69)^2/4}{4 - 1}} \\ &= \sqrt{\frac{14,7877 - 14,784025}{3}} \\ &= \sqrt{\frac{0,003675}{3}} = 0,035 \text{ ppm } \text{SO}_2 \end{aligned}$$

- (c) $\text{CV} = \frac{0,035 \text{ ppm}}{1,92 \text{ ppm}} \times 100 \% = 1,8 \%$

Obsérvese que la diferencia entre Σx_i^2 y $(\Sigma x_i)^2/N$ en el ejemplo a1-2 es tan pequeña que un redondeo prematuro nos habría llevado a cometer un serio error en el cálculo del valor de s . Debido a esta fuente de error, la Ecuación a1-12 no debería usarse nunca para calcular la desviación estándar de números que contienen cinco o más dígitos, en estos casos debería usarse la Ecuación a1-9. Es importante también advertir que las calculadoras de bolsillo y los pequeños ordenadores que tienen la función desviación estándar, generalmente usan para su cálculo una versión de la Ecuación a1-12. Como consecuencia, hay que esperar

grandes errores en el cálculo de s cuando estos aparatos se aplican a datos con cinco o más cifras significativas⁷.

La ley normal de error

En estadística gaussiana, se asume que los resultados de replicados en los que aparecen errores indeterminados se distribuyen de acuerdo con la *ley normal de error*, que establece que la fracción de una población de observaciones dN/N , cuyos valores se encuentran dentro de la región x a $(x + dx)$ viene dada por

$$\frac{dN}{N} = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-(x-\mu)^2/2\sigma^2} dx \quad (\text{a1-13})$$

Aquí, μ y σ son la media y la desviación estándar de la población, y N es el número de observaciones. Las dos curvas que se muestran en la Figura a1-3a son representaciones gráficas de la Ecuación a1-13. La desviación estándar de los datos representados en la curva B es dos veces la de los datos representados en la curva A .

Obsérvese que $(x - \mu)$ en la Ecuación a1-13 es la *desviación absoluta de los valores individuales de x frente a la media* en las unidades utilizadas en la medida. Sin embargo, es más conveniente expresar las desviaciones de la media en unidades de desviación estándar z , donde

$$z = (x - \mu)/\sigma \quad (\text{a1-14})$$

Derivando esta ecuación con respecto a x , da

$$dz = dx/\sigma \quad (\text{a1-15})$$

La sustitución de estas dos relaciones en la Ecuación a1-13 nos lleva a una ecuación que expresa la distribución en términos de una única variable z . Es decir,

$$\frac{dN}{N} = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-z^2/2} dz \quad (\text{a1-16})$$

Esta expresión se puede convertir en intervalos finitos mediante la integración entre N_1 y N_2 como se muestra en el apartado siguiente.

La curva normal de error

La Figura a1-3b muestra otra forma de representar gráficamente los datos de las dos curvas de la Figura a1-3a. Ahora la abscisa es z , las desviaciones frente a la media de los datos en desviación estándar como unidad (Ecuación a1-14). Este tipo de representación produce una única curva independientemente de la magnitud de la desviación estándar de los datos. Las propiedades generales de esta curva son: (1) la desviación cero frente a la media es la que aparece con la máxima frecuencia, (2) la distribución simétrica de las desviaciones po-

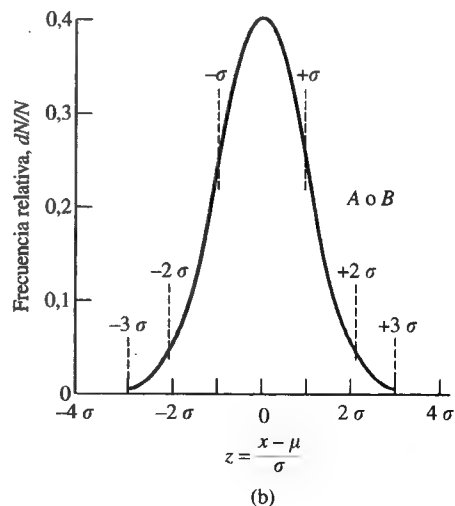
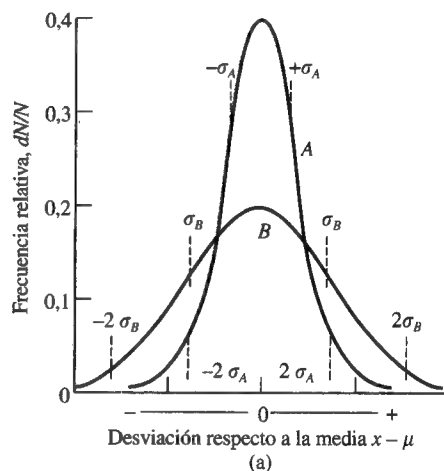


Figura a1-3. Curvas normales de error. En el caso B la desviación estándar es el doble que en el caso A ; es decir, $\sigma_B = 2\sigma_A$. (a) La abscisa es la desviación respecto a la media en las unidades de la medida. (b) La abscisa es la desviación respecto a la media en unidades σ . Por ello, A y B dan lugar a curvas idénticas.

⁷ Véase H. E. Solberg, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 1661; P. M. Wanek, y col., *Anal. Chem.*, **1982**, 54, 1877.

sitivas y negativas alrededor de este máximo, y (3) el descenso exponencial en la frecuencia cuando la magnitud de las desviaciones aumenta. Por tanto, los errores aleatorios pequeños son mucho más comunes que los errores grandes.

Áreas limitadas bajo la curva normal de error.

El área bajo la curva en la Figura a1-3 es la integral de la Ecuación a1-16 y se determina como sigue:

$$\frac{\Delta N}{N} = \int_{-a}^a \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-z^2/2} dz = \operatorname{erf}\left(\frac{a\sqrt{2}}{2}\right)$$

donde $\operatorname{erf}(b)$ es la llamada *función de error*, que viene dada por

$$\operatorname{erf}(b) = \int_0^b \frac{2}{\sqrt{\pi}} e^{-x^2} dx$$

La fracción de la población comprendida entre unos límites especificados cualesquiera viene dada por el área bajo la curva entre estos límites. Por ejemplo, el área bajo la curva entre $z = -1$ y $z = +1$ viene dada por la integral definida

$$\frac{\Delta N}{N} = \int_{-1}^1 \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-z^2/2} dx = \operatorname{erf}\left(\frac{\sqrt{2}}{2}\right) = 0,683$$

Así, el 0,683 o el 68,3 por 100 del total del área bajo la curva se encuentra entre $\pm 1\sigma$ de la media. Es decir, $\Delta N/N = 0,683$, significa que el 68,3 por 100 de la población de datos se encuentran entre $\pm 1\sigma$ de su valor medio. Calculando de forma similar con $z = 2$ y $z = 3$, se encuentra que el 95,5 por 100 de los datos se encuentra entre $\pm 2\sigma$ y el 99,7 por 100 entre $\pm 3\sigma$. Los valores de $(x - \mu)$ correspondientes a $\pm 1\sigma$, $\pm 2\sigma$ y $\pm 3\sigma$ se indican en la Figura a1-3 con líneas verticales discontinuas.

Las propiedades de la curva normal de error son útiles porque permiten establecer ciertas conclusiones acerca de la probable magnitud del error aleatorio neto en una medida o en un conjunto de medidas *siempre que se conozca la desviación estándar*. Así, puede afirmarse que hay una probabilidad de 68,3 sobre 100 de que el error aleatorio asociado a una única medida sea menor que $\pm 1\sigma$, que hay una probabilidad de 95,5 sobre 100 de que el error sea menor de $\pm 2\sigma$, y así sucesivamente. Sin lugar a dudas, la desviación estándar es un parámetro útil para estimar e indicar el error aleatorio neto probable de un método analítico.

Error estándar de la media. Las cifras de la distribución en porcentaje que se acaban de citar se refieren al error probable de una *única* medida. Si de una población de datos se toman aleatoriamente un conjunto de muestras, que contiene N datos cada una, a medida que N aumenta, las medias de las muestras mostrarán menor dispersión. La desviación estándar de las medias de las muestras se conoce como el *error estándar* de la media y se representa con el símbolo s_m . Puede demostrarse que el error estándar es inversamente proporcional a la raíz cuadrada del número de datos utilizados para calcular las medias. Es decir,

$$s_m = s/\sqrt{N} \quad (\text{a1-17})$$

La media y la desviación estándar para un conjunto de datos son parámetros estadísticos de capital importancia en todos los tipos de ciencias e ingenierías. La media es importante porque, generalmente, proporciona la mejor estimación de la variable de interés. La desviación estándar de la media es igualmente importante porque proporciona información sobre la precisión y por consiguiente sobre el error aleatorio asociado con la medida.

Método para obtener una buena aproximación de σ

Con el objeto de aplicar directamente una relación estadística a muestras finitas de datos es necesario saber que la desviación estándar s para los datos de la muestra es una buena aproximación de la desviación estándar de la población σ . Por otra parte, las inferencias estadísticas deben modificarse para tener en cuenta la incertidumbre en s . En este apartado, se consideran métodos para obtener valores fiables de s a partir de pequeñas muestras de datos experimentales.

Realización de experimentos preliminares. La incertidumbre en el valor de s calculado disminuye cuando el número de medidas N , en la Ecuación a1-9 aumenta. La Figura a1-4 muestra el error relativo de s en función de N . Obsérvese que cuando N es mayor que aproximadamente 20, puede asumirse que s y σ , en la mayoría de los casos, son idénticas. Así, cuando un método de medida no requiere excesivo tiempo y cuando se dispone de una cantidad de muestra adecuada, a veces es factible y económico realizar experimentos preliminares cuyo único objetivo es obtener una desviación estándar fiable para el método.

$$s_{\text{ponderada}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N_1} (x_i - \bar{x}_1)^2 + \sum_{j=1}^{N_2} (x_j - \bar{x}_2)^2 + \sum_{k=1}^{N_3} (x_k - \bar{x}_3)^2 + \cdots + \sum_{p=1}^{N_{n_t}} (x_p - \bar{x}_{n_t})^2}{N_1 + N_2 + N_3 + \cdots - n_t}}$$

Ponderación de datos. Para los análisis que necesitan de mucho tiempo, el procedimiento anterior rara vez es práctico. En esos casos, sin embargo, la precisión de los datos procedentes de una serie de muestras similares acumuladas a lo largo del tiempo pueden ponderarse para proporcionar una estimación de s que es superior al valor de cada subconjunto individual. De nuevo, hay que asumir que las mismas fuentes de errores aleatorios están presentes en todas las muestras. Esta premisa es generalmente válida, con tal de que las muestras tengan una composición similar y hayan sido analizadas exactamente de la misma forma. Para obtener una estimación ponderada de s , las desviaciones de la media de cada subconjunto se elevan al cuadrado; se suman los cuadrados de todos los subconjuntos y se dividen por el número apropiado de grados de libertad. La desviación estándar ponderada $s_{\text{ponderada}}$ se obtiene al hacer la raíz cuadrada del cociente. Se pierde un grado de libertad al calcular la media de cada uno de los n_t subconjuntos. Así, el número de grados de libertad para la s ponderada es igual al número total de medidas menos n_t como se muestra en la ecuación situada en la parte superior de esta página donde i , j , k y p son los índices de cada subconjunto de datos. N_1 , N_2 , $N_3 \dots N_{n_t}$ representan el número de datos de cada subconjunto y n_t es el número de subconjuntos. El Ejemplo a1-3 muestra este tipo de cálculos.

Obsérvese que en el Ejemplo a1-3 se pierde un grado de libertad en cada una de las siete muestras. Como el número de grados de libertad que queda es mayor que 20, sin embargo, la s estimada puede considerarse una buena aproximación de σ ; es decir, se puede asumir que $s \rightarrow \sigma$.

a1B-2. Límites de confianza (LC)

La media de la población (μ) o media verdadera de un conjunto de medidas es una constante que siempre será desconocida. Sin embargo, en ausencia de errores sistemáticos, se pueden fijar unos límites dentro de los cuales cabe esperar que se encuentre la media de la población con un grado de probabilidad dado. Los límites obtenidos de esta forma se denominan *límites de confianza*.

Los límites de confianza, que se calculan a partir de la desviación estándar de la muestra, dependen de la certeza con que se conoce s . Si hay razones para creer que s es una buena aproximación de σ , los límites de confianza serán significativamente más estrechos que si la estimación de s se ha obtenido con sólo dos o tres medidas.

Límites de confianza cuando s es una buena aproximación de σ

La Figura a1-5 es un conjunto de curvas normales de error en las cuales la abscisa es la cantidad z que

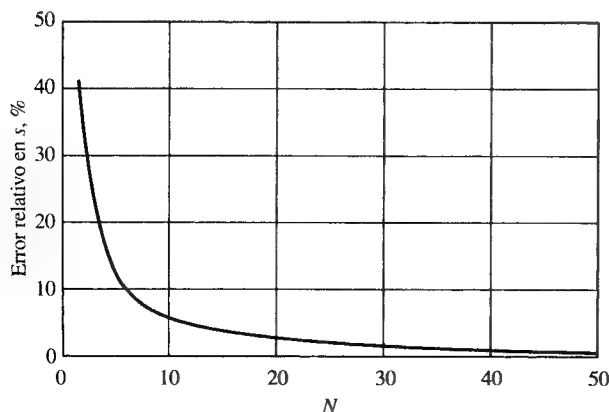


Figura a1-4. Error relativo de s en función de N .

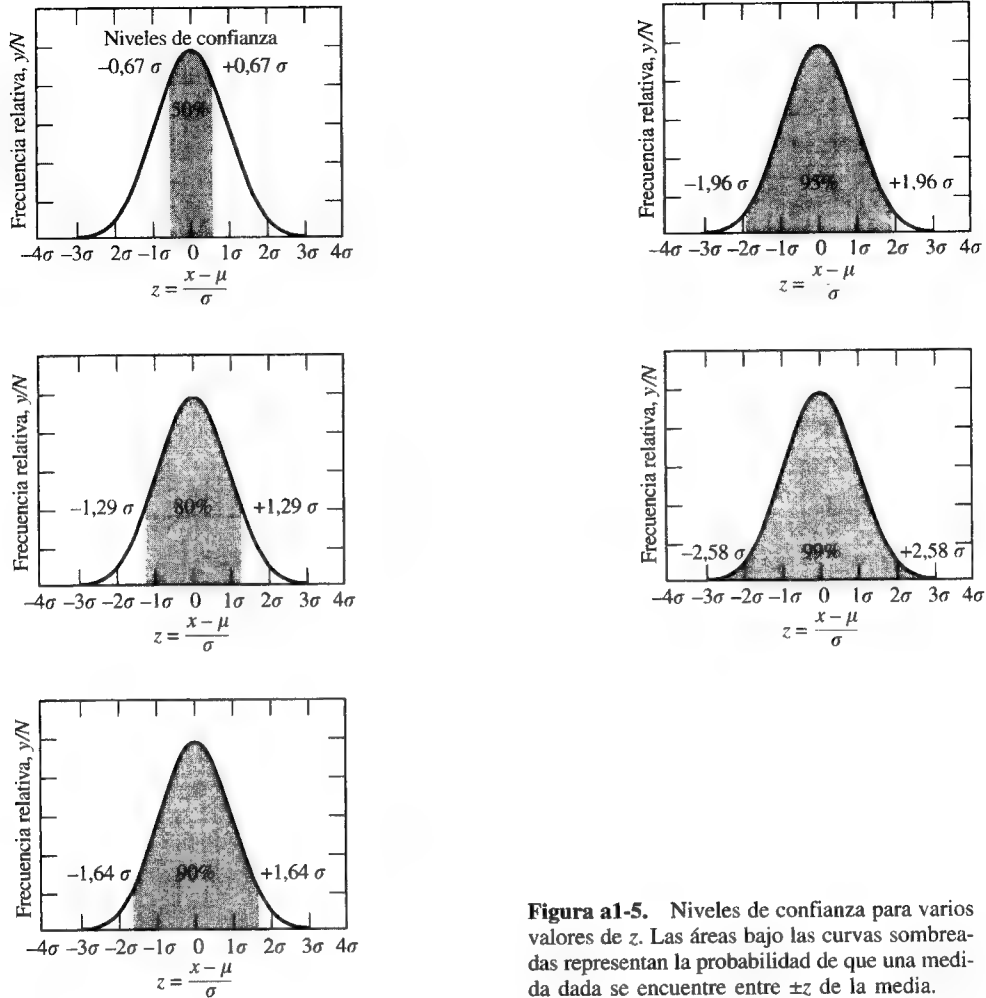


Figura a1-5. Niveles de confianza para varios valores de z . Las áreas bajo las curvas sombreadas representan la probabilidad de que una medida dada se encuentre entre $\pm z$ de la media.

representa la desviación de la media en unidades de desviación estándar de la población (Ecuación a1-14). El número que aparece en el centro de cada curva señala el porcentaje del área total bajo la curva que está comprendido entre los valores indicados de $-z$ y $+z$. Por ejemplo, el 50 por 100 del área bajo cualquier curva Gaussiana se encuentra entre $-0,67\sigma$ y $+0,67\sigma$; el 80 por 100 del área se encuentra entre $-1,29\sigma$ y $+1,29\sigma$. A partir de los últimos límites, se puede afirmar, con un 80 por 100 de probabilidad de no cometer error, que la media de la población se encuentra entre $\pm 1,29\sigma$ de cualquier medida que se realice. Aquí, el *nivel de confianza* es el 80 por 100 y el *intervalo de confianza* es $\pm z\sigma = \pm 1,29\sigma$. Una afirmación general para el

límite de confianza (LC) de una única medida se obtiene al reorganizar la Ecuación a1-14, recordando que z puede tomar valores positivos o negativos. Así,

$$\text{LC para } \mu = x \pm z\sigma \quad (\text{a1-18})$$

La Ecuación a1-18 se aplica al resultado de una única medida. La aplicación de la Ecuación a1-17 muestra que el intervalo de confianza disminuye en $\sqrt{N}$ en el caso del promedio de N replicados. Así, una forma más general de expresar la Ecuación a1-18 es

$$\text{LC para } \mu = x \pm \frac{z\sigma}{\sqrt{N}} \quad (\text{a1-19})$$

En la Tabla a1-3 se encuentran valores de z para varios niveles de confianza.

TABLA a1-3. Niveles de confianza para varios valores de z

Nivel de confianza (%)	z	Nivel de confianza (%)	z
50	0,67	96	2,00
68	1,00	99	2,58
80	1,29	99,7	3,00
90	1,64	99,9	3,29
95	1,96		

EJEMPLO a1-3

El contenido en mercurio de siete peces procedentes del río Mississippi se determinó mediante un método basado en la absorción de radiación por el mercurio elemental gaseoso. Calcular la estima-

ción ponderada de la desviación estándar del método, basándose en las tres primeras columnas de datos que aparecen en la siguiente tabla:

Número de ejemplar	Número de muestras medidas	Contenido en Hg, ppm	Media, ppm de Hg	Suma de los cuadrados de las desviaciones respecto de la media
1	3	1,80; 1,58; 1,64	1,673	0,0259
2	4	0,96; 0,98; 1,02; 1,10	1,015	0,0115
3	2	3,13; 3,35	3,240	0,0242
4	6	2,06; 1,93; 2,12; 2,16; 1,89; 1,95	2,018	0,0611
5	4	0,57; 0,58; 0,64; 0,49	0,570	0,0114
6	5	2,35; 2,44; 2,70; 2,48; 2,44	2,482	0,0685
7	4	1,11; 1,15; 1,22; 1,04	1,130	0,0170
Número de medidas	28		Suma de las sumas de cuadrados = 0,2196	

Los valores que aparecen en las columnas 4 y 5 para el ejemplar 1 fueron calculados como a continuación se indica

x_i	$ (x_i - \bar{x}) $	$(x_i - \bar{x})^2$
1,80	0,127	0,0161
1,58	0,093	0,0087
1,64	0,033	0,0011
5,02	Suma de los cuadrados = 0,0259	

$$\bar{x} = \frac{5,02}{3} = 1,673$$

Los otros datos de las columnas 4 y 5 se obtuvieron de forma similar. Luego

$$s_{\text{ponderada}} = \sqrt{\frac{0,0259 + 0,0115 + 0,0242 + 0,0611 + 0,0114 + 0,0685 + 0,0170}{28 - 7}}$$

$$= 0,100 \text{ ppm Hg}$$

EJEMPLO a1-4

Calcular los límites de confianza del 50 por 100 y del 95 por 100 para el valor de la media (1,67 ppm de Hg) para la muestra 1 en el Ejemplo a1-3. De nuevo $s \simeq \sigma = 0,10$.

Aplicando la Ecuación a1-19 a las tres medidas realizadas

$$50 \% \text{ LC} = 1,67 \pm \frac{0,67 \times 0,10}{\sqrt{3}}$$

$$= 1,67 \pm 0,04$$

$$95 \% \text{ LC} = 1,67 \pm \frac{1,96 \times 0,10}{\sqrt{3}}$$

$$= 1,67 \pm 0,11$$

Del Ejemplo a1-4 se concluye que hay un 50 por 100 de probabilidad de que μ , la media de la población (y *en ausencia de error sistemático* el valor verdadero), se encuentre entre los límites de 1,63 y 1,71 ppm de Hg. Además, hay un 95 por 100 de probabilidad de que μ se encuentre entre 1,56 y 1,78 ppm de Hg.

EJEMPLO a1-5

¿Cuántas medidas replicadas del ejemplar 1 del Ejemplo a1-3 serían necesarias para disminuir el intervalo de confianza del 95 por 100 hasta $\pm 0,07$ ppm de Hg?

El valor ponderado de s es una buena estimación de σ . La sustitución en la Ecuación a1-19 de un intervalo de confianza de $\pm 0,07$ ppm de Hg, conduce a:

$$0,07 = \pm \frac{zs}{\sqrt{N}} = \pm \frac{1,96 \times 0,10}{\sqrt{N}}$$

$$\sqrt{N} = \pm \frac{1,96 \times 0,10}{0,07} = 2,80$$

$$N = 7,8.$$

Así pues, se concluye que ocho medidas proporcionarían una probabilidad ligeramente mejor del 95 por 100 de que la media de la población estuviera dentro de un intervalo de $\pm 0,07$ ppm de Hg de la media experimental.

Considerando la Ecuación a1-19 se deduce que el intervalo de confianza para un análisis puede reducirse a la mitad si se utiliza en los cálculos la media de cuatro medidas. Para reducir otra vez a la mitad el intervalo, se necesitarían dieciséis medidas. Así, se suele aprovechar la ganancia relativamente grande que se logra al promediar de dos a cuatro medidas, dado que rara vez se dispone del tiempo necesario para mejorar más la confianza.

En el análisis de los datos, es esencial tener siempre presente que los límites de confianza basados en la Ecuación a1-19 sólo se aplican *en ausencia de errores sistemáticos*.

Límites de confianza cuando σ es desconocida

Con frecuencia, el químico debe hacer uso de métodos que le son poco familiares, donde las limitaciones de tiempo o las de cantidad de muestra disponible impiden una estimación exacta de σ . En estos casos, un único conjunto de medidas replicadas debe proporcionar no sólo el valor de la media sino también una estimación de la precisión. Como se ha indicado anteriormente, el valor de s calculado a partir de un conjunto pequeño de datos puede estar sujeto a una incertidumbre considerable; por tanto, cuando no se dispone de una buena estimación de σ , los límites de confianza deben ampliarse.

Para tener en cuenta la posible variabilidad en s , se utiliza el parámetro estadístico t , que se define como

$$t = (x - \mu)/s \quad (\text{a1-20})$$

Véase la similitud entre las Ecuaciones a1-20 y a1-14. Al contrario que el parámetro z de la Ecuación a1-14, t depende no sólo del nivel de confianza deseado sino también del número de grados de libertad disponibles para el cálculo de s . La Tabla a1-4 proporciona los valores de t para un número reducido de grados de libertad; se pueden encontrar tablas más extensas en la mayoría de las compilaciones de matemáticas. Obsérvese que los valores de t llegan a igualarse con los de z (Tabla a1-3) a medida que el número de grados de libertad se hace próximo a infinito. El parámetro t se le denomina, con frecuencia, *t de student*, seudónimo utilizado por el matemático británico W. S. Gossett que fue quien primero la describió y demostró su utilidad.

El límite de confianza para la media $\bar{x}$ de N medidas replicadas puede obtenerse mediante el cálculo a partir de t con una ecuación análoga a la a1-19; esto es,

$$\text{CL para } \mu = \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}} \quad (\text{a1-21})$$

TABLA a1-4. Valores de t para varios niveles de probabilidad

Grados de libertad	Valor para un intervalo de confianza (%)				
	80	90	95	99	99,9
1	3,08	6,31	12,7	63,7	637
2	1,89	2,92	4,30	9,92	31,6
3	1,64	2,35	3,18	5,84	12,9
4	1,53	2,13	2,78	4,60	8,60
5	1,48	2,02	2,57	4,03	6,86
6	1,44	1,94	2,45	3,71	5,96
7	1,42	1,90	2,36	3,50	5,40
8	1,40	1,86	2,31	3,36	5,04
9	1,38	1,83	2,26	3,25	4,78
10	1,37	1,81	2,23	3,17	4,59
11	1,36	1,80	2,20	3,11	4,44
12	1,36	1,78	2,18	3,06	4,32
13	1,35	1,77	2,16	3,01	4,22
14	1,34	1,76	2,14	2,98	4,14
∞	1,29	1,64	1,96	2,58	3,29

EJEMPLO a1-6

Un químico obtuvo los siguientes datos al determinar el contenido de alcohol de una muestra de sangre; tanto por ciento de etanol = 0,084, 0,089 y

0,079. Calcular el límite de confianza del 95 por 100, para la media, suponiendo que: (a) no se conoce la precisión del método y, (b) de experiencias previas se sabe que $s \rightarrow \sigma = 0,006$ por 100 de etanol.

$$\begin{aligned} \text{(a)} \quad \Sigma x_i &= 0,084 + 0,089 + 0,079 = 0,252 \\ \Sigma x_i^2 &= 0,0070566 + 0,007921 + 0,006241 = \\ &= 0,021218 \end{aligned}$$

$$s = \sqrt{\frac{0,021218 - (0,252)^2/3}{3 - 1}} = 0,0050$$

En este caso, $\bar{x} = 0,252/3 = 0,084$. La Tabla a1-4 indica que $t = \pm 4,30$ para dos grados de libertad y un 95 por 100 de confianza. Así,

$$\begin{aligned} \text{LC del 95 \%} &= \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}} \\ &= 0,084 \pm \frac{4,3 \times 0,0050}{\sqrt{3}} \\ &= 0,084 \pm 0,012 \end{aligned}$$

(b) Dado que se dispone de un buen valor de σ

$$\begin{aligned} \text{LC del 95 \%} &= \bar{x} \pm \frac{z\sigma}{\sqrt{N}} \\ &= 0,084 \pm \frac{1,96 \times 0,006}{\sqrt{3}} \\ &= 0,084 \pm 0,007 \end{aligned}$$

Del Ejemplo a1-6 se deduce que una buena estimación de σ reduce casi a la mitad el intervalo de confianza.

a1B-3. Prueba del sesgo

Como ya se indicó en el Apartado a1A-2, el sesgo de un método analítico, generalmente, se detecta analizando uno o varios materiales de referencia cuya composición se conoce. Con toda seguridad, la media experimental del análisis $\bar{x}$ diferirá del valor verdadero μ proporcionado para el material de referencia. En este caso, debe juzgarse si esta diferencia es consecuencia de un error aleatorio en el análisis del material de referencia o de un sesgo en el método usado.

La forma habitual de tratar estadísticamente este problema consiste en comparar la diferencia experimental $\bar{x} - \mu$ con la diferencia que cabría esperar para un nivel de probabilidad dado si no existiera sesgo. Si el valor experimental $\bar{x} - \mu$ es mayor que la diferencia calculada, es probable que exista un sesgo. Por el contrario, si el valor experimental es igual o menor que la diferencia calculada, no queda demostrada la presencia de un sesgo.

Este test de detección del sesgo utiliza el parámetro estadístico t discutido anteriormente. En este caso se reordena la Ecuación a1-21 para dar

$$\bar{x} - \mu = \pm \frac{ts}{\sqrt{N}} \quad (\text{a1-22})$$

donde N es el número de medidas replicadas que se han utilizado en el test. Si se dispone de una buena estimación de σ , entonces, la ecuación puede modificarse sustituyendo t por z y s por σ . La presencia de un sesgo en el método viene indicada cuando el valor $\bar{x} - \mu$ experimental es mayor que el valor $\bar{x} - \mu$ calculado a partir de la Ecuación a1-22. Por el contrario, si el valor calculado a partir de la Ecuación a1-22 es más grande, no queda demostrada la presencia de un sesgo.

EJEMPLO a1-7

Se ensayó un nuevo procedimiento para la determinación rápida de azufre en queroseno, se analizó una muestra que, por el método de preparación, se sabía que contenía 0,123 por 100 de S. Los resultados fueron: porcentaje de S = 0,112; 0,118; 0,115 y 0,119. ¿Indican los datos la presencia de un sesgo en el método?

$$\Sigma x_i = 0,112 + 0,118 + 0,115 + 0,119 = 0,464$$

$$\bar{x} = 0,464/4 = 0,116 \% \text{ de S}$$

$$\bar{x} - \mu = 0,116 - 0,123 = -0,007 \% \text{ de S}$$

$$\Sigma x_i^2 = 0,012544 + 0,013924 + 0,013225 + 0,014161 = 0,053854$$

$$s = \sqrt{\frac{0,053854 - (0,464)^2/4}{4 - 1}} = \sqrt{\frac{0,000030}{3}} = 0,0032$$

En la Tabla a1-4 se ve que para un nivel de confianza del 95 por 100 y tres grados de libertad, el valor de t es 3,18. Por tanto,

$$\frac{ts}{\sqrt{4}} = \frac{3,18 \times 0,0032}{\sqrt{4}} = \pm 0,0051$$

Puede esperarse que la media experimental se desvie $\pm 0,0051$ o algo más con una frecuencia no mayor de 5 veces de cada 100. Así, si establecemos que $\bar{x} - \mu = -0,007$ es una diferencia significativa y que hay un sesgo presente, nos equivocaremos, en promedio, menos de 5 veces de cada 100.

Si se realiza un cálculo similar utilizando el valor de t para un nivel de confianza del 99 por 100, $ts/\sqrt{N}$ vale 0,0093. Así, si se insiste en no estar equivocados más de una vez de cada 100, debemos concluir que no se ha *demostrado* la existencia del sesgo. Obsérvese que esta afirmación es diferente de decir que no hay sesgo.

EJEMPLO a1-8

Supongamos que, de anteriores experiencias, se sabe que el método descrito en el Ejemplo a1-7 tiene una desviación estándar de la población del 0,0032 por 100 de S. Esto es, $s \rightarrow \sigma = 0,0032$. ¿Puede deducirse la presencia de un sesgo para un nivel de confianza del 99 por 100?

En este caso se escribirá que

$$\bar{x} - \mu = \pm \frac{z\sigma}{\sqrt{N}} = \pm \frac{2,58 \times 0,0032}{\sqrt{4}} = \pm 0,00413$$

La diferencia experimental de $-0,007$ es significativamente mayor que este número. Por tanto, indica claramente un sesgo.

a1B-4. Propagación de la incertidumbre de las medidas

Un típico método instrumental de análisis implica varias medidas experimentales, cada una de las cuales está sujeta a una incertidumbre indeterminada y cada una de ellas contribuye al error indeterminado neto del resultado final. A fin de mostrar cómo dichas incertidumbres afectan al resultado de un análisis, supongamos que un resultado x depende de las variables experimentales $p, q, r, \dots$, cada una de las cuales fluctúa de forma aleatoria e inde-

pendiente. Esto es, x es una función de $p, q, r, \dots$, de tal manera que se puede escribir

$$x = f(p, q, r, \dots) \quad (\text{a1-23})$$

La incertidumbre dx_i (desviación respecto de la media) de la i -ésima medida de x dependerá del tamaño y signo de las correspondientes incertidumbres $dp, dq, dr, \dots$, y puede escribirse

$$dx_i = f(dp_i, dq_i, dr_i, \dots)$$

La variación de dx en función de las incertidumbres de $p, q, r, \dots$ puede deducirse teniendo en cuenta la derivada parcial de x (Ecuación a1-23) con respecto a cada una de las variables $p, q, r, \dots$. Es decir,

$$dx = \left(\frac{\partial x}{\partial p}\right) dp + \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right) dq + \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right) dr + \dots \quad (\text{a1-24})$$

Para encontrar una relación entre la desviación estándar de x y las desviaciones estándar de p, q y r , es necesario elevar al cuadrado la anterior ecuación. Así:

$$(dx)^2 = \left[\left(\frac{\partial x}{\partial p}\right) dp + \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right) dq + \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right) dr + \dots \right]^2 \quad (\text{a1-25})$$

Esta ecuación ha de sumarse entre los límites de $i = 1$ a $i = N$, donde N es, de nuevo, el número total de medidas replicadas.

Al elevar al cuadrado la Ecuación a1-24, surgen dos tipos de términos procedentes de la parte derecha de la ecuación: (1) términos elevados al cuadrado y (2) términos producto. Los términos elevados al cuadrado pueden escribirse

$$\left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)^2 dp^2, \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right)^2 dq^2, \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right)^2 dr^2, \dots$$

Los términos elevados al cuadrado son siempre positivos y no pueden, por ello, *anularse nunca*. Por el contrario, los términos producto pueden tener signo positivo o negativo. Ejemplos de ello son

$$\left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)\left(\frac{\partial x}{\partial q}\right) dpdq, \left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)\left(\frac{\partial x}{\partial r}\right) dpdr, \dots$$

Si dp, dq y dr representan *incertidumbres aleatorias e independientes*, algunos de los términos producto serán negativos y otros positivos. Así, *la suma de todos estos términos debe aproximarse a cero*, en particular cuando N es grande⁸.

Como consecuencia de la tendencia de los términos producto a cancelarse, la suma de la Ecuación a1-25 desde $i = 1$ hasta $i = N$ puede suponerse que está compuesta exclusivamente por los términos al cuadrado. Esta suma puede escribirse

$$\Sigma(dx_i)^2 = \left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)^2 \Sigma(dp_i)^2 + \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right)^2 \Sigma(dq_i)^2 + \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right)^2 \Sigma(dr_i)^2 + \dots \quad (\text{a1-26})$$

Dividiendo por N resulta

$$\frac{\Sigma(dx_i)^2}{N} = \left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)^2 \frac{\Sigma(dp_i)^2}{N} + \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right)^2 \frac{\Sigma(dq_i)^2}{N} + \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right)^2 \frac{\Sigma(dr_i)^2}{N} + \dots \quad (\text{a1-27})$$

Sin embargo, a partir de la Ecuación a1-7 se observa que

$$\frac{\Sigma(dx_i)^2}{N} = \frac{\Sigma(x_i - \mu)^2}{N} = \sigma_x^2$$

donde σ_x^2 es la varianza de x . De forma análoga,

$$\frac{\Sigma(dp_i)^2}{N} = \sigma_p^2$$

y así sucesivamente. Así pues, la Ecuación a1-27 puede escribirse en términos de las varianzas de las cantidades; esto es,

$$\sigma_x^2 = \left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)^2 \sigma_p^2 + \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right)^2 \sigma_q^2 + \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right)^2 \sigma_r^2 + \dots \quad (\text{a1-28})$$

El ejemplo siguiente ilustra cómo se utiliza la Ecuación a1-28 para obtener la varianza de una cantidad calculada a partir de varios datos experimentales.

⁸ Si las variables no son independientes, los términos producto deberán mantenerse independientemente del tamaño de N . Véase S. L. Meyer, *Data Analysis for Scientists and Engineers*, New York: John Wiley, 1975.

EJEMPLO a1-9

El número de platos N de una columna cromatográfica puede calcularse a partir de la Ecuación 26-17 (Capítulo 26):

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2$$

donde t_R es el tiempo de retención y W es la anchura del pico cromatográfico en las mismas unidades que t_R . El significado de estos términos se explica en la Figura 26-6.

El hexaclorobenceno exhibe un pico en cromatografía de líquidos de alta resolución con un tiempo de retención de 13,36 minutos. La anchura del pico en su base es de 2,18 minutos. La desviación estándar s de las dos medidas de tiempo es de 0,043 y 0,061 minutos, respectivamente. Calcular (a) el número de platos de la columna y (b) la desviación estándar del resultado calculado.

$$(a) \quad N = 16 \left(\frac{13,36}{2,18} \right)^2 = 601 \text{ platos}$$

(b) Sustituyendo s por σ en la Ecuación a1-28 resulta

$$s_N^2 = \left(\frac{\partial N}{\partial t_R} \right)_W^2 s_{t_R}^2 + \left(\frac{\partial N}{\partial W} \right)_{t_R}^2 s_W^2$$

Obteniendo la derivada parcial de la ecuación original

$$\left(\frac{\partial N}{\partial t_R} \right)_W = \frac{32 t_R}{W^2} \quad \text{y} \quad \left(\frac{\partial N}{\partial W} \right)_{t_R} = \frac{-32 t_R^2}{W^3}$$

Sustituyendo estas relaciones en la ecuación previa resulta

$$\begin{aligned} s_N^2 &= \left(\frac{32 t_R}{W^2} \right)^2 s_{t_R}^2 + \left(\frac{-32 t_R^2}{W^3} \right)^2 s_W^2 \\ &= \left(\frac{32 \times 13,36 \text{ min}}{(2,18 \text{ min})^2} \right)^2 (0,061 \text{ min})^2 \\ &\quad + \left(\frac{-32 (13,36 \text{ min})^2}{(2,18 \text{ min})^3} \right)^2 (0,043 \text{ min})^2 = 592,1 \end{aligned}$$

$$s_N \sqrt{592,1} = 24,3 = 24 \text{ platos}$$

Así pues, $N = 6,0(\pm 0,2) \times 10^2$ platos.

a1B-5. Redondeo de los resultados de los cálculos matemáticos

La Ecuación a1-28 ayuda a decidir cómo deberían redondearse los resultados de los cálculos aritméticos. Por ejemplo, considérese el caso en que el resultado x se calcula a partir de la relación

$$x = p + q - r$$

en la que p , q y r son cantidades experimentales cuyas desviaciones estándar para una muestra son respectivamente s_p , s_q y s_r . Aplicando la Ecuación a1-18 (o sea, utilizando desviaciones estándar de muestra en lugar de las correspondientes a la población) resulta

$$s_x^2 = \left(\frac{\partial x}{\partial p} \right)_{q,r}^2 s_p^2 + \left(\frac{\partial x}{\partial q} \right)_{p,r}^2 s_q^2 + \left(\frac{\partial x}{\partial r} \right)_{p,q}^2 s_r^2$$

Ahora bien,

$$\left(\frac{\partial x}{\partial p} \right)_{q,r} = \left(\frac{\partial x}{\partial q} \right)_{p,r} = 1 \quad \text{y} \quad \left(\frac{\partial x}{\partial r} \right)_{p,q} = -1$$

Por tanto, la varianza de x viene dada por

$$s_x^2 = s_p^2 + s_q^2 + s_r^2$$

o la desviación estándar del resultado viene dada por

$$s_x = \sqrt{s_p^2 + s_q^2 + s_r^2}$$

En consecuencia, la desviación estándar *absoluta* de una suma o de una resta es igual a la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de las desviaciones estándar *absolutas* de los números que constituyen dicha suma o resta.

Las relaciones de la columna 3 de la Tabla a1-5 se obtienen procediendo de la misma manera pero para otras operaciones aritméticas. Obsérvese que en los distintos cálculos, las varianzas relativas como $(s_x/x)^2$ y $(s_p/p)^2$ se combinan en lugar de las desviaciones estándar absolutas.

EJEMPLO a1-10

Calcular la desviación estándar del resultado de la siguiente operación:

$$\frac{[14,3(\pm 0,2) - 11,6(\pm 0,2)] \times 0,050(\pm 0,001)}{[820(\pm 10) \pm 1.030(\pm 5)] \times 42,3(\pm 0,4)} = 1,725(\pm ?) \times 10^{-6}$$

Primero debe calcularse la desviación estándar de la suma y de la resta. La desviación estándar s_p de la resta del numerador viene dada por:

$$s_p = \sqrt{(\pm 0,2)^2 + (\pm 0,2)^2} = \pm 0,283$$

Para la suma del denominador, la desviación estándar s_q es:

$$s_q = \sqrt{(\pm 10)^2 + (\pm 5)^2} = \pm 11,2$$

Por tanto, puede reescribirse la ecuación como:

$$\frac{2,7(\pm 0,283) \times 0,050(\pm 0,001)}{1.850(\pm 11,2) \times 42,3(\pm 0,4)} = 1,725 \times 10^{-6}$$

Ahora, la ecuación sólo contiene productos y cocientes y, por tanto, se puede aplicar la Ecuación (2) de la Tabla a1-5:

$$\frac{s_x}{x} = \sqrt{\left(\frac{\pm 0,283}{2,7}\right)^2 + \left(\frac{\pm 0,001}{0,050}\right)^2 + \left(\frac{\pm 11,2}{1850}\right)^2 + \left(\frac{\pm 0,4}{42,3}\right)^2} = \pm 0,107$$

Para obtener la desviación estándar absoluta, se escribe:

$$s_x = \pm 0,107x = \pm 0,107 \times 1,725 \times 10^{-6} = \pm 0,185 \times 10^{-6}$$

y el resultado se redondea a $1,7(\pm 0,2) \times 10^{-6}$.

EJEMPLO a1-11

Calcular las desviaciones absolutas de los resultados de los siguientes cálculos. La desviación estándar absoluta de cada una de las cantidades se da entre paréntesis.

- (a) $x = \log [2,00(\pm 0,02) \times 10^{-4}] = -3,6990 \pm ?$
 (b) $x = \text{antilog} [1,200(\pm 0,003)] = 15,849 \pm ?$
 (c) $x = \text{antilog} [45,4(\pm 0,3)] = 2,5119 \times 10^{45} \pm ?$

- (a) Utilizando la Ecuación (4) de la Tabla a1-5 se obtiene

$$s_x = \pm 0,434 \times \frac{0,02 \times 10^{-4}}{2,00 \times 10^{-4}} = \pm 0,004$$

TABLA a1-5. Propagación del error en los cálculos aritméticos

Tipo de cálculo	Ejemplo*	Desviación estándar de x
Adición o sustracción	$x = p + q - r$	$s_x = \sqrt{s_p^2 + s_q^2 + s_r^2}$ (1)
Multiplicación o división	$x = p \cdot q/r$	$\frac{s_x}{x} = \sqrt{\left(\frac{s_p}{p}\right)^2 + \left(\frac{s_q}{q}\right)^2 + \left(\frac{s_r}{r}\right)^2}$ (2)
Exponencial	$x = p^y$	$\frac{s_x}{x} = y \frac{s_p}{p}$ (3)
Logaritmo	$x = \log_{10} p$	$s_x = 0,434 \frac{s_p}{p}$ (4)
Antilogaritmo	$x = \text{antilog}_{10} p$	$\frac{s_x}{x} = 2,303 s_p$ (5)

* p , q y r son las variables experimentales cuyas desviaciones estándar son s_p , s_q y s_r .

Por tanto,

$$\log [2,00(\pm 0,02) \times 10^{-4}] = -3,699 (\pm 0,004)$$

- (b) Usando la Ecuación (5) de la Tabla a1-5, se obtiene

$$\frac{s_x}{x} = 2,303 \times (\pm 0,003) = \pm 0,0069$$

$$s_x = \pm 0,0069x = \pm 0,0069 \times 15,849 = 0,109$$

$$\text{Por tanto, antilog } [1,200(\pm 0,003)] \\ = 15,8 \pm 0,1$$

(c) $\frac{s_x}{x} = 2,303 (\pm 0,3) = \pm 0,691$

$$s_x = \pm 0,691 \times 2,511 \times 10^{45} = \pm 1,7 \times 10^{45}$$

$$\text{En consecuencia, antilog } [45,4 (\pm 0,3)] \\ = 2,5 (\pm 1,7) \times 10^{45}$$

El Ejemplo a1-11 demuestra que el antilogaritmo de un número que posea sólo unos pocos decimales conlleva un error absoluto grande. Esta gran incertidumbre surge del hecho de que las cifras a la izquierda de la coma decimal (la característica del número) sólo sirven para situar la coma. El gran error en los resultados de los antilogaritmos proviene de la incertidumbre relativamente grande de la *mantisa* del número (esto es, $0,4 \pm 0,3$).

a1C. MÉTODO DE MÍNIMOS CUADRADOS

La mayoría de los métodos analíticos se basan en una curva de calibración en la que una cantidad medida y se representa en función de la concentración conocida x de una serie de estándares. La Figura a1-6 muestra una curva de calibración típica, deducida para la determinación cromatográfica de isooctano en muestras de hidrocarburos. La ordenada (la variable dependiente) es el área del pico cromatográfico del isooctano, y la abscisa (la variable independiente) es el tanto por ciento en moles de isooctano. Lo más habitual (y deseable) es que la gráfica se aproxime a una línea recta. Obsérvese, sin embargo, que no todos los datos quedan exactamente sobre dicha línea debido a los errores

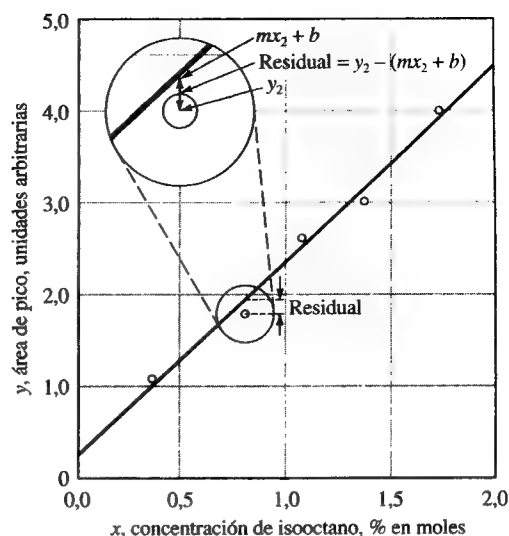


Figura a1-6. Curva de calibración para la determinación de isooctano en mezclas de hidrocarburos.

aleatorios del proceso de medida. Por tanto, se debe intentar ajustar la «mejor» línea recta que pase a través de los puntos. La forma más habitual de encontrar dicha línea es utilizar el *método de mínimos cuadrados*.

Al aplicar el método de mínimos cuadrados, se supone que la línea recta es un buen modelo para relacionar el área de los picos (y) y la concentración de analito (x) que viene dada por la ecuación

$$y = mx + b$$

en la que m es la pendiente de la línea recta y b la ordenada en el origen. La pendiente y la ordenada en el origen se conocen como *parámetros* del modelo, que, en este caso, corresponde a una línea recta. También se supone que cualquier desviación de los puntos individuales respecto a la línea recta, proviene del error en la medida del área y que no existe error en los valores de x , esto es, que las concentraciones de las disoluciones estándar se conocen exactamente.

Como muestra la Figura a1-6, la desviación vertical de cada punto respecto a la línea recta se denomina *residual*. La línea obtenida por el método de mínimos cuadrados es aquella que minimiza la suma de los cuadrados de los residuales de todos los puntos. Por conveniencia, se definen tres cantidades S_{xx} , S_{yy} y S_{xy} , y tal como sigue:

$$S_{xx} = \sum (x_i - \bar{x})^2 = \sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{N} \quad (\text{a1-29})$$

$$S_{yy} = \sum (y_i - \bar{y})^2 = \sum y_i^2 - \frac{(\sum y_i)^2}{N} \quad (\text{a1-30})$$

$$S_{xy} = \sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) = \sum x_i y_i - \frac{\sum x_i \sum y_i}{N} \quad (\text{a1-31})$$

En estas ecuaciones x_i e y_i , son las coordenadas de los puntos correspondientes a los datos individuales, N es el número de pares de datos utilizados al preparar la curva de calibración y $\bar{x}$ e $\bar{y}$ son los valores promedio de las variables, o

$$\bar{x} = \sum x_i / N \quad y \quad \bar{y} = \sum y_i / N$$

Obsérvese que S_{xx} y S_{yy} son las sumas de los cuadrados de las desviaciones respecto de la media de los valores individuales de x y y . Cuando se usa una calculadora de bolsillo, es mas conveniente utilizar los miembros que aparecen más a la derecha en las Ecuaciones a1-29, a1-30 y a1-31.

A partir de S_{xx} , S_{yy} , y S_{xy} , pueden calcularse seis parámetros muy útiles.

1. La pendiente de la recta, m :

$$m = S_{xy} / S_{xx} \quad (\text{a1-32})$$

2. La ordenada en el origen b :

$$b = \bar{y} - m\bar{x} \quad (\text{a1-33})$$

3. La desviación estándar de la regresión, o el error estándar del cálculo de los residuales s_r ($y_c - mx - b$):

$$s_r = \sqrt{\frac{S_{yy} - m^2 S_{xx}}{N - 2}} \quad (\text{a1-34})$$

4. La desviación estándar de la pendiente s_m :

$$s_m = s_r / \sqrt{S_{xx}} \quad (\text{a1-35})$$

5. La desviación estándar de la ordenada en el origen s_b :

$$\begin{aligned} s_b &= s_r \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{N \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}} \quad (\text{a1-36}) \\ &= s_r \sqrt{\frac{1}{N - (\sum x_i)^2 / \sum x_i^2}} \end{aligned}$$

6. La desviación estándar de los resultados analíticos s_c obtenidos a partir de los parámetros de los datos ajustados por mínimos cuadrados:

$$s_c = \frac{s_r}{m} \sqrt{\frac{1}{M} + \frac{1}{N} + \frac{(\bar{y}_c - \bar{y})^2}{m^2 S_{xx}}} \quad (\text{a1-37})$$

La Ecuación a1-37 permite calcular la desviación estándar de la media $\bar{y}_c$, de un conjunto de M análisis replicados cuando se usa una curva de calibración de N puntos; recuérdese que $\bar{y}$ es el valor de la media de y para los N datos de la calibración.

EJEMPLO a1-12

Obtener la regresión por mínimos cuadrados de los datos experimentales indicados en las dos primeras columnas de la Tabla a1-6 y representados en la Figura a1-6.

Las columnas 3, 4 y 5 de la tabla contienen los valores calculados para x_i^2 , y_i^2 , y $x_i y_i$; sus sumas aparecen en la última fila de cada columna. Obsérvese que el número de dígitos mantenidos en los valores calculados debería ser *el máximo permitido por la calculadora o el ordenador, y no debería realizarse el redondeo hasta que se haya completado todo el cálculo.*

Si se sustituye en las Ecuaciones a1-29, a1-30 y a1-31 se obtiene

$$S_{xx} = \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2 / N = 6,90201 - (5,365)^2 / 5 = 1,14537$$

$$S_{yy} = \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2 / N = 36,3775 - (12,51)^2 / 5 = 5,07748$$

$$S_{xy} = \sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i / N = 15,81992 - 5,365 \times 12,51 / 5 = 2,39669$$

Sustituyendo estas cantidades en las Ecuaciones a1-32 y a1-33 resulta

$$m = 2,39669 / 1,14537 = 2,0925 = 2,09$$

$$b = \frac{12,51}{5} - 2,0925 \times \frac{5,365}{5} = 0,2567 = 0,26$$

Así pues, la ecuación de la recta obtenida por mínimos cuadrados es

$$y = 2,09 x + 0,26$$

La sustitución en la Ecuación a1-34 proporciona la desviación estándar de los residuales:

$$s_r = \sqrt{\frac{S_{yy} - m^2 S_{xx}}{N - 2}}$$

$$= \sqrt{\frac{5,07748 - (2,0925)^2 \times 1,14537}{5 - 2}}$$

$$= 0,144 = 0,14$$

y la sustitución en la Ecuación a1-35 da la desviación estándar de la pendiente:

$$s_m = s_r \sqrt{S_{xx}} = 0,144 / \sqrt{1,14537} = 0,13$$

La desviación estándar de la ordenada en el origen se obtiene a partir de la Ecuación a1-36. Así

$$s_b = 0,144 \sqrt{\frac{1}{5 - (5,365)^2 / 6,90201}} = 0,16$$

EJEMPLO a1-13

La curva de calibración obtenida en el Ejemplo a1-12 se utilizó para la determinación cromatográfica de isooctano en una mezcla de hidrocarburos. El área de pico obtenida fue de 2,65. Calcular el porcentaje molar de isooctano y la desviación estándar del resultado si el área fue (a) el resultado de una única medida y (b) la media de cuatro medidas.

Para ambos casos,

$$x = \frac{y - 0,26}{2,09} = \frac{2,65 - 0,26}{2,09} = 1,14 \text{ moles \%}$$

(a) Sustituyendo en la Ecuación a1-37, se obtiene

$$s_c = \frac{0,14}{2,09} \sqrt{\frac{1}{1} + \frac{1}{5} + \frac{(2,65 - 12,51/5)^2}{(2,09)^2 \times 1,145}}$$

$$= 0,074 \text{ moles \%}$$

(b) Para la media de las cuatro medidas,

$$s_c = \frac{0,14}{2,09} \sqrt{\frac{1}{4} + \frac{1}{5} + \frac{(2,65 - 12,51/5)^2}{(2,09)^2 \times 1,145}}$$

$$= 0,046 \text{ moles \%}$$

TABLA a1-6. Datos de la calibración de un método cromatográfico para la determinación de isooctano en una mezcla de hidrocarburos

Porcentaje molar de isooctano, x_i	Área de pico, y_i	x_i^2	y_i^2	$x_i y_i$
0,352	1,09	0,12390	1,1881	0,38368
0,803	1,78	0,64481	3,1684	1,42934
1,08	2,60	1,16640	6,7600	2,80800
1,38	3,03	1,90440	9,1809	4,18140
1,75	4,01	3,06250	16,0801	7,01750
5,365	12,51	6,90201	36,3775	15,81992

a1D. CUESTIONES Y PROBLEMAS

a1-1. Considerar los conjuntos de datos mostrados en la tabla de la página siguiente (parte superior derecha):

Calcular: (a) la media de cada uno de los conjuntos de datos e indicar cuántos grados de libertad están asociados con el cálculo de $\bar{x}$, (b) la desviación estándar absoluta de cada conjunto, e indicar cuántos grados de libertad están asociados con el cálculo de s ; (c) el error estándar de la media de

cada conjunto; (d) el coeficiente de variación respecto de la media de los datos individuales.

- a1-2.** Los valores aceptados para los conjuntos de datos del Problema a1-1 son: A 61,71; B 3,28; C 12,23 y D 2,75. Calcular: (a) el error absoluto de la media de cada conjunto; (b) el error relativo, en tanto por ciento, de cada una de las medias.

- a1-3.** Un método determinado para el análisis de cobre da resultados que en todos los casos difieren del valor verdadero 0,5 mg, por defecto. ¿Cuál será el error relativo, en tanto por ciento, debido a esta causa si el peso de cobre en la muestra es (a) 25 mg; (b) 100 mg; (c) 250 mg; (d) 500 mg?

- a1-4.** El método descrito en el Problema a1-3 se va a utilizar para analizar una mena que contiene alrededor de un 4,8 por 100 de cobre. ¿Qué peso mínimo de muestra debería tomarse si el error relativo debido a los 0,5 mg de pérdida, ha de ser menor de un (a) 0,1 por 100; (b) 0,5 por 100; (c) 0,8 por 100; (d) 1,2 por 100?

- a1-5.** Una técnica instrumental dada presenta una desviación estándar de un 1,0 por 100. ¿Cuántas medidas replicadas son necesarias si el error estándar de la media ha de ser de un 0,01 por 100?

- a1-6.** Se sabe que una cierta técnica presenta una media de 0,500 y una desviación estándar de $1,84 \times 10^{-3}$. También se sabe que sigue una distribución gaussiana. ¿Cuántos replicados son necesarios para que el error estándar de la media no supere el 0,100 por 100?

- a1-7.** Un método particular para la determinación de cromo en muestras geológicas lleva asociado una pérdida constante por solubilidad de unos 1,8 mg. Una muestra que contiene aproximadamente un 18 por 100 de Cr se analizó por este método. Si la muestra que se tomó para el análisis pesó 0,400 g, predecir el error relativo (en partes por mil) de los resultados debido al citado error sistemático.

- a1-8.** Los siguientes datos provienen del estudio de control del ion calcio en el plasma sanguíneo de distintos individuos:

Individuo	Contenido medio en calcio (mg/100 mL)	Número de observaciones	Desviación de los resultados individuales respecto de la media
1	3,16	5	0,14; 0,09; 0,06; 0,00; 0,11
2	4,08	4	0,07; 0,12; 0,10; 0,01
3	3,75	5	0,13; 0,05; 0,08; 0,14; 0,07
4	3,49	3	0,10; 0,13; 0,07
5	3,32	6	0,07; 0,10; 0,11; 0,03; 0,14; 0,05

- (a) Calcular s para cada conjunto de valores.
(b) Ponderar los datos y calcular la s del método analítico.

- a1-9.** Un método para la determinación del contenido de plomo en muestras de aerosoles atmosféricos se basa en la aspiración a través de un filtro de una cantidad medida de aire, y en el posterior análisis de dichos filtros cortados en círculos. Calcular los valores de s en cada caso, así como el valor ponderado de los datos.

Muestra	$\mu\text{g Pb/m}^3$ de aire
1	1,5; 1,2; 1,3
2	2,0; 2,3; 2,3; 2,2
3	1,8; 1,7; 1,4; 1,6
4	1,6; 1,3; 1,2; 1,5; 1,6

A	B	C	D
61,45	3,27	12,06	2,7
61,53	3,26	12,14	2,4
61,32	3,24		2,6
	3,24		2,9
	3,28		
	3,23		

- a1-10.** Estimar la desviación estándar absoluta y el coeficiente de variación de los resultados de los siguientes cálculos. Redondear cada resultado de forma que sólo contenga las cifras significativas. Los números entre paréntesis son las desviaciones estándar absolutas.
- (a) $y = 6,75(\pm 0,03) + 0,843(\pm 0,001) - 7,021(\pm 0,001) = 0,572$
 - (b) $y = 67,1(\pm 0,3) \times 1,03(\pm 0,02) \times 10^{-17} = 6,9113 \times 10^{-16}$
 - (c) $y = 243(\pm 1) \times \frac{760(\pm 2)}{1,006(\pm 0,006)} = 183.578,5$
 - (d) $y = \frac{143(\pm 6) - 64(\pm 3)}{1.249(\pm 1) + 77(\pm 8)} = 5,9578 \times 10^{-2}$
 - (e) $y = \frac{1,97(\pm 0,01)}{243(\pm 3)} = 8,106996 \times 10^{-3}$
- a1-11.** Estimar la desviación estándar absoluta y el coeficiente de variación de los resultados de los siguientes cálculos. Redondear cada resultado para que sólo incluya las cifras significativas. Los números entre paréntesis son las desviaciones estándar absolutas.
- (a) $y = -1,02(\pm 0,02) \times 10^{-7} - 3,54(\pm 0,2) \times 10^{-8} = -1,374 \times 10^{-7}$
 - (b) $y = 100,20(\pm 0,08) - 99,62(\pm 0,06) + 0,200(\pm 0,004) = 0,780$
 - (c) $y = 0,0010(\pm 0,0005) \times 18,10(\pm 0,02) \times 200(\pm 1) = 3,62$
 - (d) $y = [33,33(\pm 0,03)]^3 = 37.025,927$
 - (e) $y = \frac{1,73(\pm 0,03) \times 10^{-14}}{1,63(\pm 0,04) \times 10^{-16}} = 106,1349693$
- a1-12.** Basándose en una amplia experiencia previa, se sabe que la desviación estándar de un método analítico para determinar oro en el agua de mar es de 0,025 ppb. Calcular el intervalo de confianza del 99 por 100 para un análisis que usa este método, basado en
- (a) una única medida,
 - (b) tres medidas,
 - (c) cinco medidas.
- a1-13.** Un método establecido para el análisis de hidrocarburos clorados en muestras de aire tiene una desviación estándar de 0,030 ppm.
- (a) Calcular el intervalo de confianza del 95 por 100 para la media de cuatro medidas obtenidas con este método.
 - (b) ¿Cuántas medidas deberían hacerse si se pretende que el intervalo de confianza del 95 por 100 sea $\pm 0,017$?
- a1-14.** Teniendo en cuenta una amplia experiencia previa, se ha encontrado que la desviación estándar de un método para el análisis de monóxido de carbono en los gases de escape de los automóviles es de 0,80 ppm.
- (a) Estimar el intervalo de confianza del 90 por 100 para un análisis por triplicado.
 - (b) ¿Cuántas medidas serían necesarias para que el intervalo de confianza del 90 por 100 sea de 0,50 ppm?
- a1-15.** El tanto por ciento de níquel en una determinada muestra de un acero de referencia del NIST es de un 1,12 por 100 y su desviación estándar es 0,03 por 100. Un nuevo método espectrométrico para la determinación de níquel dio los siguientes tantos por ciento: 1,10; 1,08; 1,09; 1,12 y 1,09. ¿Hay algún indicio de sesgo en el método para un nivel de confianza del 95 por 100?

- a1-16.** Un método volumétrico para la determinación de calcio en piedra caliza se comprobó analizando una piedra caliza del NIST que contenía un 30,15 por 100 de CaO. La media del resultado de cuatro análisis fue de 30,26 por 100 de CaO, con una desviación estándar del 0,085 por 100. La ponderación de los datos de varios análisis establece que $s \rightarrow \sigma = 0,094$ por 100 de CaO.
- ¿Indican los datos la presencia de un error determinado para un nivel de confianza del 95 por 100?
 - ¿Indican los datos la presencia de un error determinado para un nivel de confianza del 95 por 100 si no se dispusiera para σ de un valor ponderado?
- a1-17.** Para comprobar la calidad del trabajo de un laboratorio comercial, se le solicitó el análisis por duplicado de una muestra de ácido benzoico purificado (68,8 por 100 de C, 4,953 por 100 de H). Se supone que la desviación estándar relativa del método es $s_r \rightarrow \sigma_r = 4$ ppt para el carbono, y de 6 ppt para el hidrógeno. Las medias de los resultados son 68,5 por 100 de C y 4,882 por 100 de H. Para un nivel de confianza del 95 por 100, ¿hay alguna indicación de error determinado en cualquiera de los análisis?
- a1-18.** El diámetro de una esfera es de 2,15 cm, y la desviación estándar de la media es de 0,02 cm. ¿Cuál es la mejor estimación del volumen de la esfera, y cuál es la desviación estándar de dicho volumen?
- a1-19.** Un determinado medidor de pH puede realizar lecturas con una desviación estándar de $\pm 0,01$ unidades de pH en el intervalo de 2 a 12. Calcular la desviación estándar de $[\text{H}_3\text{O}^+]$ en cada extremo de ese intervalo.
- a1-20.** Se prepara una solución por pesada de 5,0000 g de un compuesto X en un matraz aforado de 100 mL. La balanza tenía una precisión, expresada como desviación estándar, de 0,2 mg y el matraz aforado podía llenarse con una precisión de 0,15 mL, también expresada como desviación estándar. ¿Cuál es la desviación estándar estimada de la concentración en g/mL?
- a1-21.** Estimar la desviación estándar absoluta del resultado de las siguientes operaciones (los números entre paréntesis son las desviaciones estándar absolutas de los números que les preceden). Dar el resultado con el número apropiado de cifras significativas.
- $x = \log 878(\pm 4) = 2,94349$
 - $x = \log 0,4957(\pm 0,0004) = -0,30478$
 - $p = \text{antilogaritmo } 3,64(\pm 0,01) = 4365,16$
 - $p = \text{antilogaritmo } -7,191(\pm 0,002) = 6,44169 \times 10^{-8}$
- a1-22.** La concentración de ion sulfato en aguas naturales puede determinarse midiendo la turbidez que resulta cuando se añade un exceso de BaCl_2 , a una cantidad medida de muestra. El instrumento usado para este análisis, un turbidímetro, se calibró con una serie de soluciones estándar de Na_2SO_4 . En la calibración se obtuvieron los datos siguientes:

mg $\text{SO}_4^{2-}/\text{L}$, c_x	Lectura del turbidímetro, R
0,00	0,06
5,00	1,48
10,00	2,28
15,0	3,98
20,0	4,61

Suponer que existe una relación lineal entre la lectura del instrumento y la concentración.

- Representar los datos y dibujar a ojo la línea recta a través de los puntos.
- Obtener la ecuación de mínimos cuadrados que relaciona las distintas variables.
- Comparar la línea recta obtenida en (b) con la de (a).
- Calcular la desviación estándar de la pendiente y de la ordenada en el origen de la recta de mínimos cuadrados.

- (e) Calcular la concentración de sulfato en una muestra que da una lectura en el turbidímetro de 3,67. Calcular la desviación estándar absoluta del resultado y el coeficiente de variación.
- (f) Repetir los cálculos del apartado (e), pero suponiendo ahora que el valor 3,67 es la media de seis lecturas del turbidímetro.

- a1-23.** Los siguientes datos se obtuvieron al calibrar un electrodo selectivo del ion calcio para la determinación del pCa. Se sabe que existe una relación lineal entre el potencial E y el pCa.
- (a) Representar los datos y dibujar a ojo la línea recta a través de los puntos.
 - (b) Calcular la ecuación de mínimos cuadrados para la mejor recta que pasa por los puntos. Representar dicha recta.
 - (c) Calcular la desviación estándar de la pendiente y de la ordenada en el origen de la recta de mínimos cuadrados.

pCa	E , mV
5,00	-53,8
4,00	-27,7
3,00	+2,7
2,00	+31,9
1,00	+65,1

- (d) Calcular el pCa de una disolución de suero para la que el potencial del electrodo fue de 20,3 mV. Calcular las desviaciones estándar absoluta y relativa de dicho valor de pCa si éste se determinó a partir de una única medida de voltaje.
- (e) Calcular las desviaciones estándar absoluta y relativa del pCa si la lectura de (d) en milivoltios era la media de dos medidas replicadas. Repetir el cálculo basándolo en la media de ocho medidas.
- (f) Calcular la concentración molar de ion calcio para la muestra descrita en (d).
- (g) Calcular las desviaciones estándar absoluta y relativa de la concentración de ion calcio si la medida se realiza como se ha descrito en (e).

- a1-24.** Los siguientes valores son las áreas relativas de los picos de los cromatogramas correspondientes a unas disoluciones patrón de metilvinilcetona (MVK).

Concentración MVK, mmoles/L	Área relativa del pico
0,500	3,76
1,50	9,16
2,50	15,03
3,50	20,42
4,50	25,33
5,50	31,97

- (a) Deducir la ecuación de mínimos cuadrados suponiendo que las variables están relacionadas linealmente entre sí.
- (b) Representar los puntos experimentales, así como la recta de mínimos cuadrados.
- (c) Calcular la desviación estándar de la pendiente y de la ordenada en el origen de la recta.
- (d) Las áreas relativas de los picos correspondientes a dos muestras de MVK fueron 6,3 y 27,5. Calcular la concentración de MVK en cada disolución.
- (e) Suponer que los resultados del apartado (d) representan una única medida, así como la media de cuatro medidas. Calcular en ambos casos las desviaciones estándar absoluta y relativa.

Apéndice

2

Coeficientes de actividad

La relación entre la *actividad* a_X de una especie y su concentración molar $[X]$ viene dada por la expresión

$$a_X = \gamma_X[X] \quad (\text{a2-1})$$

donde γ_X es un número adimensional llamado *coeficiente de actividad*. El coeficiente de actividad, y por tanto la actividad de X, varían con la *fuerza iónica* de la disolución, de forma que la utilización de a_X en lugar de $[X]$ en el cálculo de un potencial de electrodo, o en los cálculos de otros equilibrios, hace que el valor numérico obtenido sea independiente de la fuerza iónica. En este caso la fuerza iónica μ se define por la ecuación

$$\mu = \frac{1}{2}(c_1 Z_1^2 + c_2 Z_2^2 + c_3 Z_3^2 + \dots) \quad (\text{a2-2})$$

donde $c_1, c_2, c_3, \dots$ representan las concentraciones molares de los distintos iones en la disolución y $Z_1, Z_2, Z_3, \dots$ son sus respectivas cargas. Obsérvese que el cálculo de la fuerza iónica requiere tener en cuenta a *todas* las especies iónicas de la disolución, no sólo las reaccionantes.

EJEMPLO a2-1

Calcular la fuerza iónica de una disolución 0,0100 M en NaNO_3 y 0,0200 M en $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.

En este caso, se despreciará la contribución de los H^+ y los OH^- a la fuerza iónica, puesto que sus concentraciones son muy pequeñas comparadas con las de las dos sales. Las molaridades del Na^+ , NO_3^- y Mg^{2+} son 0,0100; 0,0500 y 0,0200, respectivamente. Por tanto

$$\begin{aligned} c_{\text{Na}^+} \times (1)^2 &= 0,0100 \times 1 = 0,0100 \\ c_{\text{NO}_3^-} \times (1)^2 &= 0,0500 \times 1 = 0,0500 \\ c_{\text{Mg}^{2+}} \times (2)^2 &= 0,0200 \times 2^2 = 0,0800 \\ \text{Suma} &= 0,1400 \end{aligned}$$

$$\mu = \frac{1}{2} \times 0,1400 = 0,0700$$

a2A. PROPIEDADES DE LOS COEFICIENTES DE ACTIVIDAD

Los coeficientes de actividad tienen las siguientes propiedades:

1. El coeficiente de actividad de una especie se puede imaginar como una medida de la efectividad con la que esta especie influye en el equilibrio en el que participa. En disoluciones muy diluidas, en las que la fuerza iónica es mínima, los iones están suficientemente separados de forma que sus comportamientos no se ven afectados entre sí. En esta situación, la efectividad de un ion común en la posición del equilibrio depende sólo de su concentración molar y es independiente del resto de los iones. En estas circunstancias, el coeficiente de actividad se hace igual a la unidad y $[X]$ y a en la Ecuación a2-1 son idénticas. Cuando la fuerza iónica aumenta, el comportamiento de un ion individual está influido por los iones vecinos más cercanos. El resultado es una disminución en la efectividad del ion para alterar la posición del equilibrio químico. Su coeficiente de actividad, entonces, se hace menor que la unidad. Este comportamiento se puede resumir en términos de la Ecuación a2-1. Para fuerzas iónicas moderadas, $\gamma_X < 1$; a medida que la disolución se aproxima a dilución infinita ($\mu \rightarrow 0$), $\gamma_X \rightarrow 1$ y por tanto $a_X \rightarrow [X]$.

Para fuerzas iónicas elevadas, los coeficientes de actividad de algunas especies aumentan y pueden incluso llegar a ser mayores que uno. El comportamiento de tales disoluciones es difícil de interpretar; la discusión se limitará a regiones de baja a moderada fuerza iónica (o sea, en las que $\mu < 0,1$). En la Figura a2-1 se muestra la variación de algunos coeficientes de actividad característicos en función de la fuerza iónica.

2. En las disoluciones diluidas, el coeficiente de actividad de una especie dada es independien-

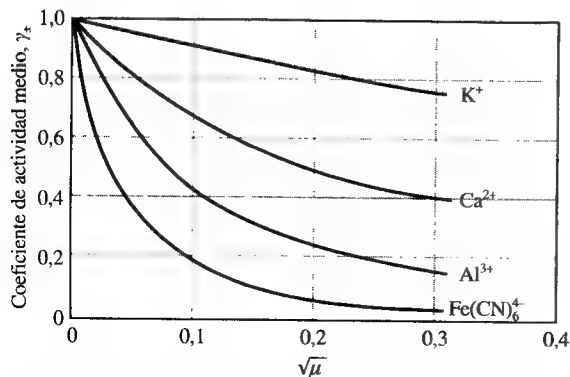


Figura a2-1. Efecto de la fuerza iónica en los coeficientes de actividad.

te de la naturaleza específica del electrólito y depende sólo de la fuerza iónica.

3. Para una fuerza iónica dada, el coeficiente de actividad de un ion se desvía más de la unidad a medida que la carga que lleva la especie aumenta. Este efecto se muestra en la Figura a2-1. El coeficiente de actividad de una molécula no cargada es aproximadamente uno, independientemente de la fuerza iónica.
4. Los coeficientes de actividad de iones con la misma carga son aproximadamente los mismos a cualquier fuerza iónica dada.
5. El producto del coeficiente de actividad por la concentración molar de un ion dado describe su comportamiento efectivo en todos los equilibrios en los que participa.

a2B. EVALUACIÓN EXPERIMENTAL DE LOS COEFICIENTES DE ACTIVIDAD

Aunque los coeficientes de actividad de los iones individuales se pueden calcular a partir de consideraciones teóricas, su medida experimental es, por desgracia, imposible. En su lugar, sólo puede obtenerse un coeficiente de actividad medio para las especies de la disolución cargadas positiva y negativamente.

Para el electrólito $A_m B_n$, el coeficiente de actividad medio $\gamma_{\pm}$ se define por la ecuación

$$\gamma_{\pm} = (\gamma_A^m \gamma_B^n)^{1/(m+n)}$$

El coeficiente de actividad medio puede medirse de distintas maneras, pero es imposible experimentalmente resolver este término en los coeficientes de actividad individuales γ_A y γ_B . Por ejemplo, si $A_m B_n$ es un precipitado, podemos escribir

$$\begin{aligned} K_{sp} &= [A]^m [B]^n \gamma_A^m \gamma_B^n \\ &= [A]^m [B]^n \gamma_{\pm}^{(m+n)} \end{aligned}$$

Midiendo la solubilidad de $A_m B_n$ en una disolución en la que la concentración de electrólito se aproxima a cero (esto es, cuando γ_A y $\gamma_B \rightarrow 1$), se puede obtener K_{sp} . Una segunda medida de la solubilidad a cierta fuerza iónica, μ_1 proporcionaría los valores de $[A]$ y $[B]$. Estos datos permitirían entonces el cálculo de $\gamma_A^m \gamma_B^n = \gamma_{\pm}^{(m+n)}$ a la fuerza iónica μ_1 . Sin embargo, es importante comprender que hay insu-

TABLA a2-1. Coeficientes de actividad de algunos iones a 25 °C^a

Ion	Coeficientes de actividad a las fuerzas iónicas indicadas					
	α_X , nm	0,001	0,005	0,01	0,05	0,1
H ₃ O ⁺	0,9	0,967	0,933	0,914	0,86	0,83
Li ⁺ , C ₆ H ₅ COO ⁻	0,6	0,965	0,929	0,907	0,84	0,80
Na ⁺ , IO ₃ ⁻ , HSO ₃ ⁻ , HCO ₃ ⁻ , H ₂ PO ₄ ⁻ , H ₂ AsO ₄ ⁻ , OAc ⁻	0,4-0,45	0,964	0,928	0,902	0,82	0,78
OH ⁻ , F ⁻ , SCN ⁻ , HS ⁻ , ClO ₃ ⁻ , ClO ₄ ⁻ , BrO ₃ ⁻ , IO ₄ ⁻ , MnO ₄ ⁻	0,35	0,964	0,926	0,900	0,81	0,76
K ⁺ , Cl ⁻ , Br ⁻ , I ⁻ , CN ⁻ , NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , HCOO ⁻	0,3	0,964	0,925	0,899	0,80	0,76
Rb ⁺ , Cs ⁺ , Tl ⁺ , Ag ⁺ , NH ₄ ⁺	0,25	0,964	0,924	0,898	0,80	0,75
Mg ²⁺ , Be ²⁺	0,8	0,872	0,755	0,69	0,52	0,45
Ca ²⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , Sn ²⁺ , Mn ²⁺ , Fe ²⁺ , Ni ²⁺ , Co ²⁺ , Ftalato ²⁻	0,6	0,870	0,749	0,675	0,48	0,40
Sr ²⁺ , Ba ²⁺ , Cd ²⁺ , Hg ²⁺ , S ²⁻	0,5	0,868	0,744	0,67	0,46	0,38
Pb ²⁺ , CO ₃ ²⁻ , SO ₃ ²⁻ , C ₂ O ₄ ²⁻	0,45	0,868	0,742	0,665	0,46	0,37
Hg ₂ ²⁺ , SO ₄ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , CrO ₄ ²⁻ , HPO ₄ ²⁻	0,40	0,867	0,740	0,660	0,44	0,36
Al ³⁺ , Fe ³⁺ , Cr ³⁺ , La ³⁺ , Ce ³⁺	0,9	0,738	0,54	0,44	0,24	0,18
PO ₄ ³⁻ , Fe(CN) ₆ ³⁻	0,4	0,725	0,50	0,40	0,16	0,095
Th ⁴⁺ , Zr ⁴⁺ , Ce ⁴⁺ , Sn ⁴⁺	1,1	0,588	0,35	0,255	0,10	0,065
Fe(CN) ₆ ⁴⁻	0,5	0,57	0,31	0,20	0,048	0,021

^a De J. Kielland, *J. Am. Chem. Soc.*, **1937**, 59, 1675. Cortesía de American Chemical Society.

ficientes datos experimentales para posibilitar el cálculo de las cantidades *individuales* γ_A y γ_B y no parece que pueda haber información experimental adicional que permita la evaluación de estas cantidades. Esta situación es general; la determinación *experimental* de los coeficientes de actividad individuales parece ser imposible.

a2C. LA ECUACIÓN DE DEBYE-HÜCKEL

En 1923, P. Debye y E. Hückel dedujeron la siguiente expresión teórica, que permite el cálculo de los coeficientes de actividad de los iones¹:

$$-\log \gamma_A = \frac{0,509 Z_A^2 \sqrt{\mu}}{1 + 3,28 \alpha_A \sqrt{\mu}} \quad (\text{a2-3})$$

donde

γ_A = coeficiente de actividad de la especie A

Z_A = carga de la especie A

μ = fuerza iónica de la disolución

α_A = diámetro efectivo del ion hidratado en angstroms

Las constantes 0,509 y 0,328 se aplican cuando las disoluciones se encuentran a 25 °C; cuando las temperaturas son diferentes se deben utilizar otros valores.

Desafortunadamente, existe una considerable incertidumbre respecto a la magnitud de α_A para la Ecuación a2-3. Su valor para la mayoría de los iones con una sola carga parece ser de aproximadamente 3 Å, por lo que para estas especies, el denominador de la ecuación de Debye-Hückel se reduce a aproximadamente $(1 + \sqrt{\mu})$. Para iones con mayor carga, α_A puede ser superior a 10 Å. Debería tenerse en cuenta que, cuando la fuerza iónica es menor de 0,01, el segundo término del denominador es pequeño comparado con el primero; en esas

¹ P. Debye y E. Hückel, *Physik. Z.*, **1923**, 24, 185.

circunstancias, la incertidumbre en α_A es poco significativa en el cálculo de los coeficientes de actividad.

Kielland² ha calculado los valores de α_A para numerosos iones a partir de distintos datos experimentales. Sus «mejores valores» para los diámetros efectivos se dan en la Tabla a2-1, en la página anterior. También se presentan los coeficientes de actividad calculados a partir de la Ecuación a2-3 utilizando estos valores para el diámetro efectivo.

Para fuerzas iónicas hasta 0,01, los coeficientes de actividad de la ecuación de Debye-Hückel conducen a resultados en los cálculos de los equilibrios

que concuerdan mucho con los experimentales; incluso a fuerzas iónicas de 0,1, no se encuentran generalmente grandes discrepancias. Sin embargo, a fuerzas iónicas más altas, la ecuación falla, y se deben utilizar los coeficientes de actividad medios determinados experimentalmente. Desafortunadamente, muchos cálculos electroquímicos implican disoluciones de elevada fuerza iónica para las que no se dispone de coeficientes de actividad experimentales. Por tanto, hay que emplear concentraciones en lugar de actividades; deben esperarse incertidumbres que varían de unos porcentajes relativos bajos hasta un orden de magnitud.

² J. Kielland, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1937**, 59, 1675.

Apéndice

3

Algunos potenciales estándar y formales de electrodo

Semirreacción	E^0 , V ^a	Potencial formal, V ^b
Aluminio $\text{Al}^{3+} + 3e^- \rightleftharpoons \text{Al}(s)$	-1,662	
Antimonio $\text{Sb}_2\text{O}_5(s) + 6\text{H}^+ + 4e^- \rightleftharpoons 2\text{SbO}^+ + 3\text{H}_2\text{O}$	+0,581	
Arsénico $\text{H}_3\text{AsO}_4 + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{H}_3\text{AsO}_3 + \text{H}_2\text{O}$	+0,559	0,577 en HCl, HClO ₄ 1 M
Azufre $\text{S}(s) + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{S}(g)$ $\text{H}_2\text{SO}_3 + 4\text{H}^+ + 4e^- \rightleftharpoons \text{S}(s) + 3\text{H}_2\text{O}$ $\text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{SO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ $\text{S}_4\text{O}_6^{2-} + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ $\text{S}_2\text{O}_8^{2-} + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{SO}_4^{2-}$	+0,141 +0,450 +0,172 +0,08 +2,01	
Bario $\text{Ba}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Ba}(s)$	-2,906	
Bismuto $\text{BiO}^+ + 2\text{H}^+ + 3e^- \rightleftharpoons \text{Bi}(s) + \text{H}_2\text{O}$ $\text{BiCl}_4^- + 3e^- \rightleftharpoons \text{Bi}(s) + 4\text{Cl}^-$	+0,320 +0,16	
Bromo $\text{Br}_2(l) + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{Br}^-$ $\text{Br}_2(ac) + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{Br}^-$ $\text{BrO}_3^- + 6\text{H}^+ + 5e^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{Br}_2(l) + 3\text{H}_2\text{O}$ $\text{BrO}_3^- + 6\text{H}^+ + 6e^- \rightleftharpoons \text{Br}^- + 3\text{H}_2\text{O}$	+1,065 +1,087 ^c +1,52 +1,44	1,05 en HCl 4 M

Continúa

Semirreacción	E^0 , V ^a	Potencial formal, V ^b
Cadmio $\text{Cd}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Cd}(s)$	-0,403	
Calcio $\text{Ca}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Ca}(s)$	-2,866	
Carbono $\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2$ (quinona) + $2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$ $2\text{CO}_2(g) + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$	+0,699 -0,49	0,696 en HCl, HClO_4 , H_2SO_4 1 M
Cerio $\text{Ce}^{4+} + e^- \rightleftharpoons \text{Ce}^{3+}$		+1,70 en HClO_4 1 M; +1,61 en HNO_3 1 M +1,44 en H_2SO_4 1 M
Cinc $\text{Zn}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Zn}(s)$	-0,763	
Cloro $\text{Cl}_2(g) + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{Cl}^-$ $\text{HClO} + \text{H}^+ + e^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{Cl}_2(g) + \text{H}_2\text{O}$ $\text{ClO}_3^- + 6\text{H}^+ + 5e^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{Cl}_2(g) + 3\text{H}_2\text{O}$	+1,359 +1,63 +1,47	
Cobalto $\text{Co}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Co}(s)$ $\text{Co}^{3+} + e^- \rightleftharpoons \text{Co}^{2+}$	-0,277 +1,808	
Cobre $\text{Cu}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Cu}(s)$ $\text{Cu}^{2+} + e^- \rightleftharpoons \text{Cu}^+$ $\text{Cu}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{Cu}(s)$ $\text{Cu}^{2+} + \text{I}^- + e^- \rightleftharpoons \text{CuI}(s)$ $\text{CuI}(s) + e^- \rightleftharpoons \text{Cu}(s) + \text{I}^-$	+0,337 +0,153 +0,521 +0,86 -0,185	
Cromo $\text{Cr}^{3+} + e^- \rightleftharpoons \text{Cr}^{2+}$ $\text{Cr}^{3+} + 3e^- \rightleftharpoons \text{Cr}(s)$ $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 14\text{H}^+ + 6e^- \rightleftharpoons 2\text{Cr}^{3+} + 7\text{H}_2\text{O}$	-0,408 -0,744 +1,33	
Estaño $\text{Sn}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Sn}(s)$ $\text{Sn}^{4+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Sn}^{2+}$	-0,136 +0,154	- 0,16 en HClO_4 1 M 0,14 en HCl 1 M
Flúor $\text{F}_2(g) + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{HF}(ac)$	+3,06	
Hidrógeno $2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{H}_2(g)$	0,000	-0,005 en HCl, HClO_4 1 M
Hierro $\text{Fe}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Fe}(s)$ $\text{Fe}^{3+} + e^- \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+}$ $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} + e^- \rightleftharpoons \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$	-0,440 +0,771 +0,36	0,700 en HCl 1 M; 0,732 en HClO_4 1 M; 0,68 en H_2SO_4 1 M 0,71 en HCl 1 M; 0,72 en HClO_4 , H_2SO_4 1 M

Semirreacción	E^0 , V ^a	Potencial formal, V ^b
Litio		
$\text{Li}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Li}(s)$	-3,045	
Magnesio		
$\text{Mg}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Mg}(s)$	-2,363	
Manganeso		
$\text{Mn}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Mn}(s)$	-1,180	
$\text{Mn}^{3+} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Mn}^{2+}$		1,51 en H_2SO_4 7,5 M
$\text{MnO}_2(s) + 4\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Mn}^{2+} + 2\text{H}_2\text{O}$	+1,23	
$\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Mn}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O}$	+1,51	
$\text{MnO}_4^- + 4\text{H}^+ + 3\text{e}^- \rightleftharpoons \text{MnO}_2(s) + 2\text{H}_2\text{O}$	+1,695	
$\text{MnO}_4^- + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{MnO}_4^{2-}$	+0,564	
Mercurio		
$\text{Hg}_2^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Hg}(l)$	+0,788	0,274 en HCl 1 M; 0,776 en HClO_4 1 M; 0,674 en H_2SO_4 1 M
$2\text{Hg}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Hg}_2^{2+}$	+0,920	0,907 en HClO_4 1 M
$\text{Hg}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Hg}(l)$	+0,854	
$\text{Hg}_2\text{Cl}_2(s) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Hg}(l) + 2\text{Cl}^-$	+0,268	0,244 en KCl sat; 0,282 en KCl 1 M; 0,334 en KCl 0,1 M
$\text{Hg}_2\text{SO}_4(s) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Hg}(l) + \text{SO}_4^{2-}$	+0,615	
Níquel		
$\text{Ni}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ni}(s)$	-0,250	
Nitrógeno		
$\text{N}_2(g) + 5\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightleftharpoons \text{N}_2\text{H}_5^+$	-0,23	
$\text{HNO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{NO}(g) + \text{H}_2\text{O}$	+1,00	
$\text{NO}_3^- + 3\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{HNO}_2 + \text{H}_2\text{O}$	+0,94	0,92 en HNO_3 1 M
Oxígeno		
$\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{H}_2\text{O}$	+1,776	
$\text{HO}_2^- + \text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 3\text{OH}^-$	+0,88	
$\text{O}_2(g) + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{H}_2\text{O}$	+1,229	
$\text{O}_2(g) + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}_2$	+0,682	
$\text{O}_3(g) + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{O}_2(g) + \text{H}_2\text{O}$	+2,07	
Paladio		
$\text{Pd}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Pd}(s)$	+0,987	
Plata		
$\text{Ag}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ag}(s)$	+0,799	0,228 en HCl 1 M; 0,792 en HClO_4 1 M; 0,77 en H_2SO_4 1 M
$\text{AgBr}(s) + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ag}(s) + \text{Br}^-$	+0,073	
$\text{AgCl}(s) + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ag}(s) + \text{Cl}^-$	+0,222	0,228 en KCl 1 M
$\text{Ag}(\text{CN})_2^- + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ag}(s) + 2\text{CN}^-$	-0,31	
$\text{Ag}_2\text{CrO}_4(s) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Ag}(s) + \text{CrO}_4^{2-}$	+0,446	
$\text{AgI}(s) + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ag}(s) + \text{I}^-$	-0,151	
$\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ag}(s) + 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	+0,017	

Continúa

Semirreacción	E^0 , V ^a	Potencial formal, V ^b
Platino		
$\text{PtCl}_6^{2-} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Pt}(s) + 4\text{Cl}^-$	+0,73	
$\text{PtCl}_6^{2-} + 2e^- \rightleftharpoons \text{PtCl}_4^{2-} + 2\text{Cl}^-$	+0,68	
Plomo		
$\text{Pb}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Pb}(s)$	-0,126	-0,14 en HClO_4 1 M; -0,29 en H_2SO_4 1 M
$\text{PbO}_2(s) + 4\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{Pb}^{2+} + 2\text{H}_2\text{O}$	+1,455	
$\text{PbSO}_4(s) + 2e^- \rightleftharpoons \text{Pb}(s) + \text{SO}_4^{2-}$	-0,350	
Potasio		
$\text{K}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{K}(s)$	-2,925	
Selenio		
$\text{H}_2\text{SeO}_3 + 4\text{H}^+ + 4e^- \rightleftharpoons \text{Se}(s) + 3\text{H}_2\text{O}$	+0,740	
$\text{SeO}_4^{2-} + 4\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{SeO}_3 + \text{H}_2\text{O}$	+1,15	
Sodio		
$\text{Na}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{Na}(s)$	-2,714	
Talio		
$\text{Tl}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{Tl}(s)$	-0,336	-0,551 en HCl 1 M; -0,33 en HClO_4 , H_2SO_4 1 M
$\text{Tl}^{3+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Tl}^+$	+1,25	0,77 en HCl 1 M
Titinio		
$\text{Ti}^{3+} + e^- \rightleftharpoons \text{Ti}^{2+}$	-0,369	
$\text{TiO}^{2+} + 2\text{H}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{Ti}^{3+} + \text{H}_2\text{O}$	+0,099	0,04 en H_2SO_4 1 M
Uranio		
$\text{UO}_2^{2+} + 4\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{U}^{4+} + 2\text{H}_2\text{O}$	+0,334	
Vanadio		
$\text{V}^{3+} + e^- \rightleftharpoons \text{V}^{2+}$	-0,256	0,21 en HClO_4 1 M
$\text{VO}^{2+} + 2\text{H}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{V}^{3+} + \text{H}_2\text{O}$	+0,359	
$\text{V}(\text{OH})_4^+ + 2\text{H}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{VO}^{2+} + 3\text{H}_2\text{O}$	+1,00	1,02 en HCl , HClO_4 1 M
Yodo		
$\text{I}_2(s) + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{I}^-$	+0,5355	
$\text{I}_2(ac) + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{I}^-$	+0,615 ^c	
$\text{I}_3^- + 2e^- \rightleftharpoons 3\text{I}^-$	+0,536	
$\text{ICl}_2^- + e^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{I}_2(s) + 2\text{Cl}^-$	+1,056	
$\text{IO}_3^- + 6\text{H}^+ + 5e^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{I}_2(s) + 3\text{H}_2\text{O}$	+1,196	
$\text{IO}_3^- + 6\text{H}^+ + 5e^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{I}_2(ac) + 3\text{H}_2\text{O}$	+1,178 ^c	
$\text{IO}_3^- + 2\text{Cl}^- + 6\text{H}^+ + 4e^- \rightleftharpoons \text{ICl}_2^- + 3\text{H}_2\text{O}$	+1,24	
$\text{H}_5\text{IO}_6 + \text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{IO}_3^- + 3\text{H}_2\text{O}$	+1,601	

^a G. Milazzo, S. Caroli y V. K. Sharma, *Tables of Standard Electrode Potentials*. London: Wiley, 1978.^b E. H. Swift y E. A. Butler, *Quantitative Measurements and Chemical Equilibria*. New York: Freeman, 1972.^c Estos potenciales son hipotéticos porque corresponden a disoluciones que son 1,00 M en Br_2 o I_2 . Las solubilidades de estos compuestos a 25 °C son, respectivamente, 0,18 y 0,0020 M. En soluciones saturadas que contienen un exceso de $\text{Br}_2(l)$ o $\text{I}_2(s)$, deberían usarse los potenciales estándar de la semirreacción $\text{Br}_2(l) + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{Br}^-$ o $\text{I}_2(s) + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{I}^-$. Por el contrario, a concentraciones de Br_2 e I_2 , menores que la de saturación, deberían utilizarse estos hipotéticos potenciales de electrodo.

Apéndice

4

Compuestos recomendados para la preparación de disoluciones patrón de algunos elementos comunes^a

Elemento	Compuesto	PM	Disolvente ^b	Notas
Aluminio	Al metal	26,98	HCl cal. dil.	a
Antimonio	KSbOC ₄ H ₄ O ₆ · 1/2H ₂ O	333,93	H ₂ O	c
Arsénico	As ₂ O ₃	197,84	HCl dil.	i, b, d
Azufre	K ₂ SO ₄	174,27	H ₂ O	
Bario	BaCO ₃	197,35	HCl dil.	
Bismuto	Bi ₂ O ₃	465,96	HNO ₃	
Boro	H ₃ BO ₃	61,83	H ₂ O	d, e
Bromo	KBr	119,01	H ₂ O	a
Cadmio	CdO	128,40	HNO ₃	
Calcio	CaCO ₃	100,09	HCl dil.	i
Cerio	(NH ₄) ₂ Ce(NO ₃) ₆	548,23	H ₂ SO ₄	
Cinc	ZnO	81,37	HCl	a
Cobalto	Co metal	58,93	HNO ₃	a
Cobre	Cu metal	63,55	HNO ₃ dil.	a
Cromo	K ₂ Cr ₂ O ₇	294,19	H ₂ O	i, d
Estaño	Sn metal	118,69	HCl	
Estroncio	SrCO ₃	147,63	HCl	a
Flúor	NaF	41,99	H ₂ O	b
Fósforo	KH ₂ PO ₄	136,09	H ₂ O	
Hierro	Fe metal	55,85	HCl, cal.	a
Lantano	La ₂ O ₃	325,82	HCl, cal.	f
Litio	Li ₂ CO ₃	73,89	HCl	a
Magnesio	MgO	40,31	HCl	
Manganeso	MnSO ₄ · H ₂ O	169,01	H ₂ O	g
Mercurio	HgCl ₂	271,50	H ₂ O	b

Continúa

Elemento	Compuesto	PM	Disolvente ^b	Notas
Molibdeno	MoO ₃	143,94	1 M NaOH	
Níquel	Ni metal	58,70	HNO ₃ , cal.	a
Plata	AgNO ₃	169,87	H ₂ O	a
Plomo	Pb(NO ₃) ₂	331,20	H ₂ O	a
Potasio	KCl	74,56	H ₂ O	a
	KHC ₈ H ₄ O ₄	204,23	H ₂ O	i, d
	K ₂ Cr ₂ O ₇	294,19	H ₂ O	i, d
Silicio	Si metal	28,09	NaOH, conc.	
	SiO ₂	60,08	HF	j
Sodio	NaCl	58,44	H ₂ O	i
	Na ₂ C ₂ O ₄	134,00	H ₂ O	i, d
Titanio	Ti metal	47,90	H ₂ SO ₄ , 1:1	a
Uranio	U ₃ O ₈	842,09	HNO ₃	d
Vanadio	V ₂ O ₅	181,88	HCl, cal.	
Wolframio	Na ₂ WO ₄ · 2H ₂ O	329,86	H ₂ O	h
Yodo	KIO ₃	214,00	H ₂ O	i

^a Los datos de esta tabla se han obtenido de una lista más completa recopilada por B. W. Smith y M. L. Parsons. *J. Chem. Educ.*, **1973**, 50, 679. A menos que se indique, los compuestos deben desecarse a 110 °C hasta peso constante.

^b A menos que se especifique, los ácidos concentrados son de calidad para análisis.

a Se aproxima a la calidad de un patrón primario.

b Muy tóxico.

c Pierde 1/2 molécula de H₂O a 110 °C. Después de desecarlo, pm = 324,92. El compuesto desecado debe pesarse rápidamente cuando se saca del desecador.

d Disponible como patrón primario a través del National Institute of Standards and Technology.

e El H₃BO₃ debe pesarse directamente de la botella. Pierde 1 molécula de H₂O a 100 °C y es difícil desecarlo hasta peso constante.

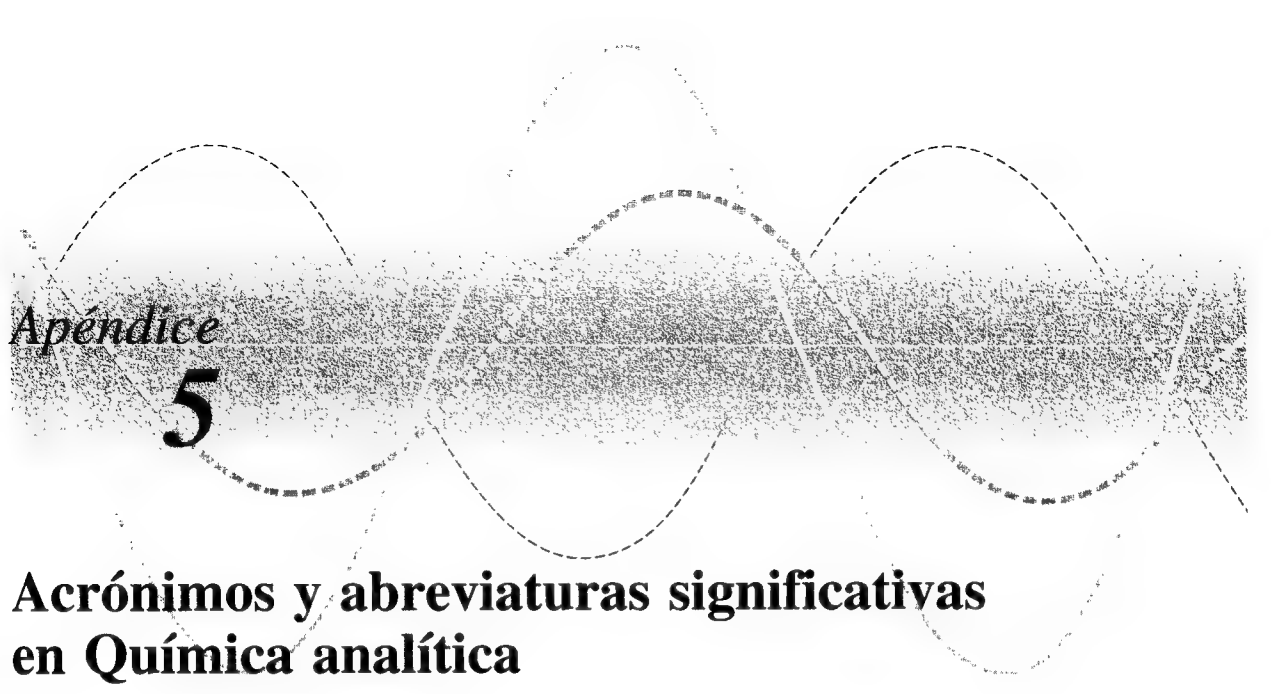
f Absorbe CO₂ y H₂O. Debería calcinarse justo antes de usarlo.

g Puede desecarse a 110 °C sin que pierda agua.

h Pierde las dos moléculas de agua a 110 °C, pm = 293,82. Después de desecarlo, guardarlo en el desecador.

i Patrón primario.

j El HF es muy tóxico y ataca al vidrio.



Apéndice 5

Acrónimos y abreviaturas significativas en Química analítica

Las abreviaturas y los acrónimos se encuentran por todas partes en Química analítica. Este apéndice es una recopilación de abreviaturas y acrónimos que se utilizan rutinariamente en Química analítica, muchos de los cuales se encuentran en este texto. Hay que tener en cuenta que, con frecuencia, los acrónimos correspondientes a las técnicas básicas se combinan para simbolizar otras más sofisticadas. Así, FT (transformada de Fourier) se combina con MS (espectrometría de masas), IR (infrarrojo), o RMN (resonancia magnética nuclear) para dar FTMS, FTIR y FT/RMN, respectivamente. Algunos de estos términos compuestos *aparecen con entidad propia* en el listado que se da a continuación. En esta relación de acrónimos y abreviaturas se deben tener en cuenta las siguientes tendencias:

- Los que acaban en C indican algún tipo de cromatografía; por ejemplo, GC significa cromatografía de gases.
- Los que finalizan en D normalmente se refieren a algún tipo de detector cromatográfico; por ejemplo, FID corresponde al detector de ionización de llama.
- Los que terminan en E generalmente indican algún tipo de electrodo; por ejemplo, SCE (ECS) significa electrodo de calomelanos saturado.
- Cuando se conoce un acrónimo se conoce generalmente parte de otros muchos acrónimos, ya que una determinada técnica analítica aparece de varias formas con nombres ligeramente distintos. Por ello, los acrónimos de diferentes formas pueden ser similares. Por ejemplo, las columnas abiertas en cromatografía de gases (OT) pueden ser de distintos tipos; de pared recubierta (WCOT), recubierta con soporte (SCOT) y de pared porosa (PLOT). En el caso de la relación señal ruido, dos acrónimos diferentes tienen el mismo significado: SNR, S/N y (S/R). El caso contrario ocurre con el acrónimo AES, que puede significar espectroscopia de emisión atómica o espectroscopia de electrones Auger. Estas técnicas son muy distintas en cuanto a su teoría, instrumentación y aplicaciones, y, por tanto, dentro del contexto de un determinado campo de aplicación o del tipo de medida no debería haber confusión entre las abreviaturas.

Acrónimos o abreviaturas	Nombre
AAS	Atomic Absorption Spectroscopy (Espectroscopia de Absorción Atómica)
ACS	American Chemical Society (Sociedad Americana de Química)
ADC	Analog-to-Digital Converter (Convertidor Analógico-Digital)
AED	Atomic Emission Detector (Detector de Emisión Atómica)
AES	Atomic Emission Spectroscopy (Espectroscopia de Emisión Atómica)
AES	Auger Electron Spectroscopy (Espectroscopia de Electrones Auger)
AFM	Atomic Force Microscopy (Microscopia de Fuerzas Atómicas)
AFS	Atomic Fluorescence Spectroscopy (Espectroscopia de Fluorescencia Atómica)
ALU	Arithmetic Logic Unit (Unidad Aritmético-Lógica)
amu	Atomic Mass Unit (unidad de masa atómica)
AOAC	Association of Official Analytical Chemists (Asociación Oficial de Químicos Analíticos)
ASCII	American Standard Code for Information Interchange (computers) (Código Estándar Americano para el Intercambio de Información) (ordenadores)
ASTM	American Society for Testing Materials (Sociedad Americana para Pruebas y Materiales)
ASV	Anodic Stripping Voltammetry (Voltamperometría de Redisolución Anódica)
ATR	Attenuated Total Reflectance (Reflectancia Total Atenuada)
BCD	Binary-Coded Decimal (Sistema Decimal Codificado en Binario)
BJT	Bipolar Junction Transistor (Transistor de Unión Bipolar)
BUN	Blood Urea Nitrogen (Nitrógeno Ureico en Sangre)
CARS	Coherent Anti-Stokes Raman Spectroscopy (Espectroscopia Raman Anti-Stokes Coherente)
CCD	Charge-Coupled Device (Dispositivo de Acoplamiento de Carga)
CE	Capillary Electrophoresis (Electroforesis Capilar)
CGE	Capillary Gel Electrophoresis (Electroforesis Capilar en Gel)
CHC	Chlorinated HydroCarbons (Hidrocarburos Clorados)
CI	Chemical Ionization source (Fuente de Ionización Química)
CID	Charge-Injection Device (Dispositivo de Inyección de Carga)
CIEF	Capillary IsoElectric Focusing electrophoresis (Isoelectroenfoque Capilar)
CITP	Capillary IsoTachoPhoresis (Isotacoforesis Capilar)
CL	ChemiLuminescence (Quimioluminiscencia)
CL	Confidence Level (Nivel de Confianza)
CL	Confidence Limit (Límite de Confianza)
CMC	Critical Micelle Concentration (Concentración Micelar Crítica)

Continúa

Acrónimos o abreviaturas	Nombre
CMRR	Common Mode Rejection Ratio (Fracción de Rechazo del Modo Común)
CPU	Central Processing Unit (Unidad Central de Procesamiento)
CRT	Cathode Ray Tube (Tubo de Rayos Catódicos)
CSP	Chiral Stationary Phase partition chromatography (Fase Estacionaria Quiral en Cromatografía de Reparto)
CT	Computerized Tomography (Tomografía Computarizada)
CTD	Charge Transfer Detector (Detector de Transferencia de Carga)
CV	Cyclic Voltammetry (Voltamperometría Cíclica)
CVD	Chemical Vapor Deposition (Deposición de Vapor Químico)
CW	Continuous Wave (laser) (Onda Continua) (láser)
CZE	Capillary Zone Electrophoresis (Electroforesis Capilar de Zona)
DAC	Digital-to-Analog Converter (Convertidor Digital a Analógico)
DBR	Distributed Bragg Reflector (Reflector de Bragg Distribuido)
DCP	Direct Current Plasma (Plasma de Corriente Continua)
DCPMS	Direct Current Plasma Mass Spectrometry (Plasma de Corriente Continua Espectrometría de Masas)
DCU	Decade Counting Unit (Unidad de Cálculo en Décadas)
DMCS	DiMethylChloroSilane (Dimetilclorosilano)
DME	Dropping Mercury Electrode (Electrodo de Gotas de Mercurio)
DMM	Digital MultiMeter (Multímetro Digital)
DNA (ADN)	DeoxyriboNucleic Acid (Ácido Desoxirribonucleico)
DPV	Differential Pulse Voltammetry (Voltamperometría Diferencial de Impulsos)
DRIFTS	Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy (Espectroscopia de Reflectancia Difusa en el Infrarrojo de Transformada de Fourier)
DSC	Differential Scanning Calorimetry (Calorimetría de Barrido Diferencial)
DTA	Differential Thermal Analysis (Análisis Térmico Diferencial)
DVM	Digital VoltMeter (Voltímetro Digital)
EAAS	Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry (Espectrometría de Absorción Atómica Electrotérmica)
EAROM	Electrically Alternable Read Only Memory (Memoria sólo de Lectura Modificable Eléctricamente)
EC	ElectroChromatography (Electrocromatografía)
ECD	Electron Capture Detector (Detector de Captura de Electrones)
EDL	Electrodeless Discharge Lamp (Lámpara de Descarga sin Electrodo)
EDTA	EthyleneDiamineTetraacetic Acid (Ácido Etilendiaminotetraacético)

Acrónimos o abreviaturas	Nombre
EDXFS	E nergy D ispersive X -ray F luorescence S pectroscopy (Espectroscopia de Fluorescencia de rayos X, instrumentos dispersivos de energías)
EI	E lectron I mpact, as in EI MS (Impacto de Electrones, como en EI MS)
ELSD	E vaporative L ight S cattering D etector (Detector de Luz Dispersada tras Evaporación)
EMI	E lectro M agnetic I nduction (Inducción Electromagnética)
EMR (REM)	E lectro M agnetic R adiation (Radiación Electromagnética)
EOF	E lectro O smotic F low (Flujo Electroosmótico)
EPA	E nvironmental P rotection A gency (Agencia de Protección Medioambiental)
EPROM	E lectronically P rogrammable R ead O nly M emory (Memoria Sólo de Lectura Borrable)
ESCA	E lectron S pectroscopy for C hemical A nálisis; XPS (Espectroscopia de Electrones para Análisis Químico; XPS)
ESI	E lectro S pray I onization mass spectrometry (Ionización por Electronebulización en Espectrometría de Masas)
ESR	E lectron S pin R esonance spectroscopy (Espectroscopia de resonancia de Espín Electrónico)
ETAAS	E lectro T hermal A tom ic A bsorption S pectroscopy (Espectroscopia de Absorción Atómica Electrotérmica)
ETAFS	E lectro T hermal A tom ic F luorescence S pectroscopy (Espectroscopia de Fluorescencia Atómica Electrotérmica)
ETV	E lectro T hermal V aporization (Vaporización Electrotérmica)
FAAS	F lame A tom ic A bsorption S pectroscopy (Espectroscopia de Absorción Atómica de Llama)
FAB	F ast A tom B ombardment (MS) (Bombardeo por Átomos Rápidos, MS)
FD	F ield D esorption (Desorción por Campo)
FDA	F ood and D rug A dministration (Agencia de Medicamentos y Alimentos)
FDJ	F ree D iffusion J unction (Unión de Difusión Libre)
FES	F lame E mission S pectroscopy (Espectroscopia de Emisión de Llama)
FET	F ield E ffect T ransistor (Transistor de Efecto de Campo)
FFP	F iberoptic F abry- P erot interferometer (Interferómetro de Fabry-Perot de Fibra Óptica)
FI	F ield I onization (MS) (Ionización por Campo, MS)
FIA	F low I njection A nalysis (Análisis por Inyección en Flujo)
FID	F lame I onization D etector (Detector de Ionización de Llama)
FID	F ree I nduction D ecay (Caída Libre de Inducción)

Continúa

Acrónimos o abreviaturas	Nombre
FL	FL uorescence (Fluorescencia)
FPD	Fl ame P hotometric D etector (Detector Fotométrico de Llama)
FSOT	F used S ilica O pen T ubular column (Columna Abierta de Sílice Fundida)
FT	F ourier T ransform (Transformada de Fourier)
FTIR	F ourier T ransform I nfrared S pectroscopy (Espectroscopia en el Infrarrojo de Transformada de Fourier)
FT/NMR (FT/RMN)	F ourier T ransform N uclear M agnetic R esonance (Resonancia Magnética Nuclear de Transformada de Fourier)
FTIR-PAS	F ourier T ransform I nfra R ed P hoto A coustic Spectroscopy (Espectroscopia Fotoacústica en el Infrarrojo de Transformada de Fourier)
FTMS	F ourier T ransform M ass S pectrometry (Espectrometría de Masas de Transformada de Fourier)
FWHM	F ull W idth at H alf M aximum (Anchura en la Mitad del Máximo)
FY	F iscal Y ear (Año Fiscal)
GC	G as C hromatography (Cromatografía de Gases)
GC/FTIR	G as C hromatography/ F ourier T ransform I nfra R ed spectrometry (Cromatografía de Gases/Espectrometría en el Infrarrojo de Transformada de Fourier)
GC/IR	G as C hromatography/ I nfra R ed spectrometry (Cromatografía de Gases/Espectroscopia en el Infrarrojo)
GC/MS	G as C hromatography/ M ass S pectrometry (Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas)
GD	G low D ischarge (Descarga Luminiscente)
GDAAS	G low D ischarge A tomc A bsorption S pectroscopy (Espectroscopia de Absorción Atómica de Descarga Luminiscente)
GDAES	G low D ischarge A tomc E mission S pectroscopy (Espectroscopia de Emisión Atómica de Descarga Luminiscente)
GDMS	G low D ischarge M ass S pectrometry (Espectrometría de Masas de Descarga Luminiscente)
GLC	G as- L iquid C hromatography (Cromatografía Gas-Líquido)
GSC	G as- S olid C hromatography (Cromatografía Gas-Sólido)
HCL	H ollow C athode L amp (Lámpara de Cátodo Hueco)
HMDE	H anging M ercury D rop E lectrode (Electrodo de Gota Colgante de Mercurio)
HETP	H eight E quivalent to a T heoretical P late (Altura Equivalente del Plato Teórico)
HPLC	H igh- P erformance L iquid C hromatography (Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia)

Acrónimos o abreviaturas	Nombre
IC	Ion Chromatography (Cromatografía Iónica)
ICP	Inductively Coupled Plasma (Plasma de Acoplamiento Inductivo)
ICPAES	Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy (Espectroscopia de Emisión Atómica Plasma de Acoplamiento Inductivo)
ICPMS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (Espectrometría de Masas Plasma de Acoplamiento Inductivo)
IEC	Ion Exchange Chromatography (Cromatografía de Intercambio Iónico)
IEF	IsoElectric Focusing (Isoelectroenfoque)
IMA	IMmunoAssay (Inmunoanálisis)
IR	InfraRed (Infrarrojo)
ISE	Ion Selective Electrode (Electrodo Selectivo de Iones)
ISFET	Ion-Selective Field Effect Transistor (Transistor de Efecto de Campo Selectivo de Iones)
ITD	Ion Trap Detector (Detector de Trampa de Iones)
ITMS	Ion Trap Mass Spectrometry (Espectrometría de Masas de Trampa de Iones)
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada)
LA	Laser Ablation (Ablación por Láser)
LAN	Local Area Network (Redes locales)
LASS	LAser Spark Spectrometry (Espectrometría de Chispa con Láser)
LC	Liquid Chromatography (Cromatografía de Líquidos)
LC/MS	Liquid Chromatography/Mass Spectrometry (Cromatografía de Líquidos/Espectrometría de Masas)
LCD	Liquid Crystal Display (Pantalla de Cristal Líquido)
LCEC	Liquid Chromatography with Electrochemical Detection (Cromatografía de Líquidos con Detección Electroquímica)
LD	Laser Desorption source (Fuente de Desorción por Láser)
LED	Light Emitting Diode (Diodo Emisor de Luz)
LIBS	Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (Espectroscopia de Ruptura Dieléctrica Inducida por Láser)
LIF	Laser-Induced Fluorescence (Fluorescencia Inducida por Láser)
LIFI	Laser-Induced Fluorescence Imaging (Imagen por Fluorescencia Inducida por Láser)
LIMS	Laboratory Information Management Systems (Sistemas de Gestión de la Información en el Laboratorio)

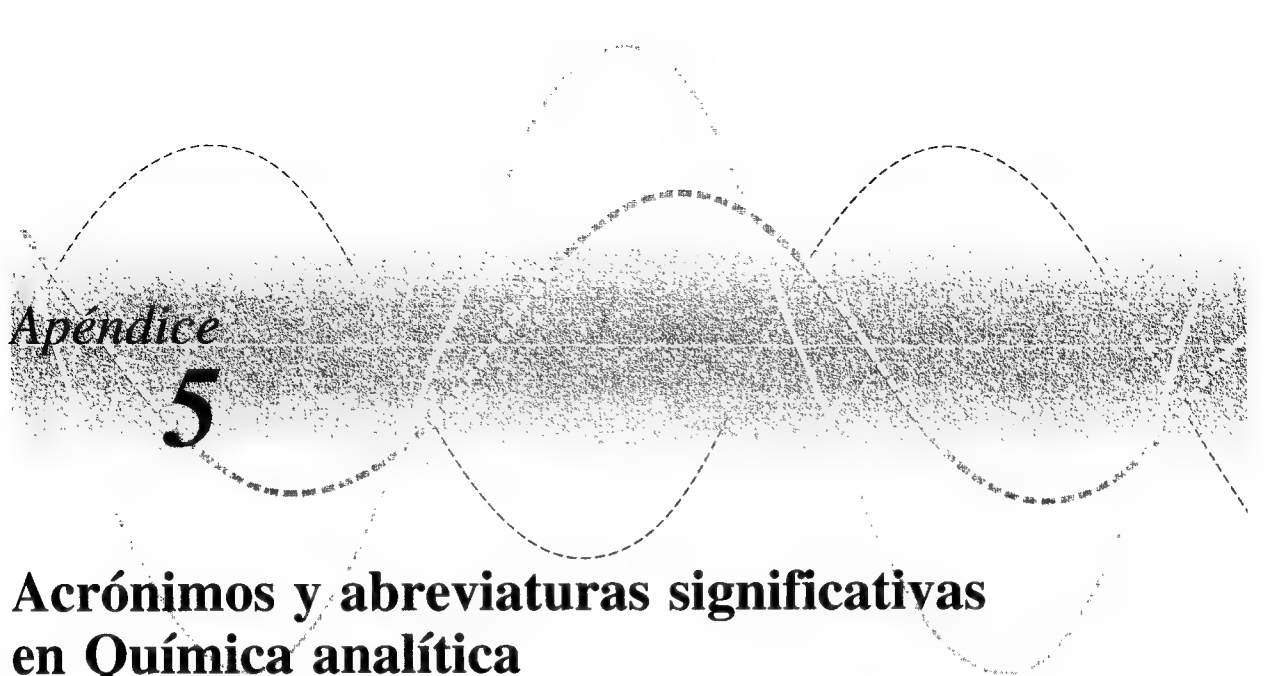
Acrónimos o abreviaturas	Nombre
LIMS/DM	L aboratory I nformation M anagement S ystem/ D ata M anagement (Sistemas de Gestión de la Información en el Laboratorio/Gestión de Datos)
LIMS/SM	L aboratory I nformation M anagement S ystem/ S ample M anagement (Sistemas de Gestión de la Información en el Laboratorio/Gestión de Muestras)
LLL	L awrence L ivermore L ab
LMMS	L aser M icroprobe M ass S pectrometry (Espectrometría de Masas con Microsonda de Láser)
LOD	L imit O f D etection (Límite de Detección)
LOL	L imit O f L inearity (Límite de Linealidad)
LOQ	L imit O f Q uantitation (Límite de Cuantificación)
LSB	L east S ignificant B it (Dígito menos significativo)
LSER	L inear S olvation E nergy R elationships (Relaciones de Energía de Solvatación Lineal)
MALDI	M atrix- A ssisted L aser D esorption/ I onization (Desorción/Ionización por Láser Asistida por una Matriz)
MECC	M icellar E lectrokinetic C apillary C hromatography (Cromatografía Capilar Electrocínética Micelar)
MIP	M icrowave- I nduced P lasma S ource (Fuente de Plasma Inducido por Microondas)
MIPMS	M icrowave- I nduced P lasma source, M ass S pectrometry (Fuente de Plasma Inducido por Microondas, Espectrometría de Masas)
MOSFET	M etal O xide S emiconductor F ield E ffect T ransistor (Transistor de Efecto de Campo de Semiconductor de Óxido Metálico)
MRI (RMI)	M agnetic R esonance I maging (Imagen por Resonancia Magnética)
MS	M ass S pectrometry (Espectrometría de Masas)
MS/MS	M ass S pectrometry/ M ass S pectrometry (Espectrometría de Masas/Espectrometría de Masas)
MSB	M ost S ignificant B it (Dígito más significativo)
MSD	M ass S elective D etector (now called simply MS) (Detector Selectivo de Masas) (actualmente llamado MS)
NAA	N eutron A ctivation A nalysis (Análisis por Activación Neutrónica)
NAPL	N on- A queous P hase L iquid (Fase Líquida No Acuosa)
NBS	N ational B ureau of S tandards (the predecessor to NIST) (Oficina Nacional de Estándares) (el predecesor de NIST)
NIH	N ational I nstitutes of H ealth (Instituto Nacional de la Salud)

Continúa

Acrónimos o abreviaturas	Nombre
NIR	N ear I nfra R ed spectroscopy (Espectroscopia en el Infrarrojo Cercano)
NIST	N ational I nstitute of S tandards and T echnology (Instituto Nacional de Estándares y Tecnología)
NMR (RMN)	N uclear M agnetic R esonance (Resonancia Magnética Nuclear)
NRL	N aval R esearch L ab (Laboratorio de Investigación Naval)
NSF	N ational S cience F oundation (Fundación Nacional para la Ciencia)
NSOM	N ear-field S canning O ptical M icroscopy (Microscopia Óptica de Barrido de Campo Cercano)
OA	O perational A mplifier (Amplificador Operacional)
ODS	O cto D ecyl S ilane (Octadecilsilano)
ONR	O ffice of N aval R esearch (Oficina de Investigación Naval)
op amp	O perational A MPlifier (amplificador operacional)
OSHA	O ccupational S afety and H ealth A dministration (Agencia de Salud y Seguridad Laboral)
OT	O pen T ubular (Columna Abierta)
PAGE	P oly A crylamide G el E lectrophoresis (Electroforesis en Gel de Poliacrilamida)
PAH	P olynuclear A romatic H ydrocarbons (Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos)
PAS	P hoto A coustic S pectrometry (Espectrometría Fotoacústica)
PAWS	P ortable A coustic W ave S ensor (Sensor de Ondas Acústicas Portátil)
PC	P aired-ion C hromatography (Cromatografía de Pares iónicos)
PC	P aper C hromatography (Cromatografía en Papel)
PCE	P er C hloro E thylene (Percloroetileno)
PCF	P lasma C entrifugal F urnace (Horno de Plasma Centrífugo)
PD	P lasma D esorption (Desorción por Plasma)
PDA	P hoto D iode A rray (Fotodiodos en Serie)
PI	P rincipal I nvestigator (Investigador Principal)
PID	P hoto I onization D etector (Detector de Fotoionización)
PITTCON	P ITTsbu R gh C ONference on A nalytical C hemistry and A ppplied S pectroscopy (Conferencia de Pittsburgh de Química Analítica y Espectroscopia Aplicada)
PLOT	P orous L ayer O pen T ubular column (Columna Abierta de Pared Porosa)
PLS	P artial L east S quares (Mínimos Cuadrados Parciales)
PM	P hoto M ultiplier tube (Tubo Fotomultiplicador)
PMT	P hoto M ultiplier T ube (Tubo Fotomultiplicador)
PNA	(P oly N uclear A romatics) (Policiclos Aromáticos)
ppm	P arts P er M illion (partes por millón)

Acrónimos o abreviaturas	Nombre
PROM	Program Read Only Memory (Programa de Memoria sólo de Lectura)
QCM	Quartz Crystal Microbalance (Microbalanza de Cristal de Cuarzo)
R&D	Research and Development (Investigación y Desarrollo)
RAM	Random Access Memory (Memoria de Acceso Aleatorio)
RID	Refractive Index Detector (Detector de Índice de Refracción)
ROM	Read Only Memory (Memoria Sólo de Lectura)
RPC	Reverse Phase Chromatography (Cromatografía en Fase Inversa)
RRS	Resonance Raman Spectroscopy (Espectroscopia de Resonancia Raman)
RSD	Relative Standard Deviation (Desviación Estándar Relativa)
RTR	Real-Time Radiography (Radiografía en Tiempo Real)
SAW	Surface Acoustic Wave (Onda Acústica de Superficie)
SCD	Sulfur Chemiluminescence Detector (Detector de Quimioluminiscencia del Azufre)
SCE (ECS)	Saturated Calomel Electrode (Electrodo de Calomelanos Saturado)
SCF	SuperCritical Fluid (Fluido Supercrítico)
SCOT	Support Coated Open Tubular (Columna Abierta Recubierta con Soporte)
SCP	SCanning Probe microscopy (Microscopia de Sonda de Barrido)
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate (Dodecilsulfato de Sodio)
SEAC	Society for ElectroAnalytical Chemistry (Sociedad de Química Electroanalítica)
SEC	Size Exclusion Chromatography (Cromatografía de Exclusión por Tamaño)
SEM	Scanning Electron Microscope (Microscopio Electrónico de Barrido)
SERS	Surface Enhanced Raman Spectroscopy (Espectroscopia Raman de Superficie Aumentada)
SFC	Supercritical Fluid Chromatography (Cromatografía de Fluidos Supercríticos)
SFE	Supercritical Fluid Extraction (Extracción con Fluidos Supercríticos)
SGE	Slab Gel Electrophoresis (Electroforesis Convencional en Gel)
SHE (ENH)	Standard Hydrogen Electrode (Electrodo Normal de Hidrógeno)
SIMS	Secondary Ion Mass Spectrometry (Espectrometría de Masas de Ion Secundario)
SNR o S/N,(S/R)	Signal-to-Noise Ratio (Relación Señal Ruido)
SPE	Solid Phase Extraction (Extracción en Fase Sólida)
SPM	Scanning Probe Microscopy (Microscopia de Sonda de Barrido)
SSMS	Spark Source Mass Spectrometry (Espectrometría de Masas de Fuente de Chispa)
STM	Scanning Tunneling Microscope (or Microscopy) (Microscopia o Microscopio de Barrido de Efecto Túnel)

Acrónimos o abreviaturas	Nombre
STP	Standard Temperature and Pressure (Presión y Temperatura Normales)
TA	Thermal Análisis (Análisis Térmico)
TCD	Thermal Conductivity Detector (Detector de Conductividad Térmica)
TCE	TriChloroEthylene (Tricloroetileno)
TDGC/MS	Time Domain Gas Chromatography/Mass Spectrometry (Cromatografía de Gases en el Dominio del Tiempo/Espectrometría de masas)
TDR	Time Domain Reflectometry (Reflectometría en el Dominio del Tiempo)
TG	ThermoGravimetry (Termogravimetría)
TGA	ThermoGravimetric Análisis (Análisis Termogravimétrico)
TID	ThermIonic Detector (Detector Termoiónico)
TIMS	Thermal Ionization Mass Spectrometry (Espectrometría de Masas de Ionización Térmica)
TISAB	Total Ionic Strength Adjusting Buffer (Disolución Reguladora para el Ajuste de la Fuerza Iónica Total)
TLC	Thin-Layer Chromatography (Cromatografía en Capa Fina)
TMA	ThermoMechanical Análisis (Análisis Termomecánico)
TMS	TetraMethylSilane (Tetrametilsilano)
TOF	Time-Of-Flight, mass spectrometry (Tiempo de Vuelo, Espectrometría de Masas)
TS	Thermospray Source (Fuente de Termonebulización o Termovaporización)
UPS	Ultraviolet Photoelectron Spectroscopy (Espectroscopia Fotoelectrónica Ultravioleta)
USDA	United States Department of Agriculture (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos)
USGS	United States Geological Survey (Inspección de Geología de los Estados Unidos)
UV	UltraViolet (Ultravioleta)
VOC	Volatile Organic Compound (Compuestos Orgánicos Volátiles)
VOST	Volatile Organic Sampling Train (Muestreador de Compuestos Orgánicos Volátiles)
WCOT	Wall Coated Open Tubular column (Columna Abierta de Pared Recubierta)
XES	X-Ray Emission Spectrometry (Espectrometría de Emisión de rayos X)
XFS	X-Ray Fluorescence Spectroscopy (Espectroscopia de Fluorescencia de rayos X)
XPS	X-Ray Photoelectron Spectroscopy (Espectroscopia Fotoelectrónica de rayos X)
XRF	X-Ray Fluorescence (Fluorescencia de rayos X)
YAG	Yttrium Aluminum Garnet (Granate de Aluminio e Itrio)
ZDV	Zero Dead Volume (Volumen Muerto Cero)



Apéndice 5

Acrónimos y abreviaturas significativas en Química analítica

Las abreviaturas y los acrónimos se encuentran por todas partes en Química analítica. Este apéndice es una recopilación de abreviaturas y acrónimos que se utilizan rutinariamente en Química analítica, muchos de los cuales se encuentran en este texto. Hay que tener en cuenta que, con frecuencia, los acrónimos correspondientes a las técnicas básicas se combinan para simbolizar otras más sofisticadas. Así, FT (transformada de Fourier) se combina con MS (espectrometría de masas), IR (infrarrojo), o RMN (resonancia magnética nuclear) para dar FTMS, FTIR y FT/RMN, respectivamente. Algunos de estos términos compuestos *aparecen con entidad propia* en el listado que se da a continuación. En esta relación de acrónimos y abreviaturas se deben tener en cuenta las siguientes tendencias:

- Los que acaban en C indican algún tipo de cromatografía; por ejemplo, GC significa cromatografía de gases.
- Los que finalizan en D normalmente se refieren a algún tipo de detector cromatográfico; por ejemplo, FID corresponde al detector de ionización de llama.
- Los que terminan en E generalmente indican algún tipo de electrodo; por ejemplo, SCE (ECS) significa electrodo de calomelanos saturado.
- Cuando se conoce un acrónimo se conoce generalmente parte de otros muchos acrónimos, ya que una determinada técnica analítica aparece de varias formas con nombres ligeramente distintos. Por ello, los acrónimos de diferentes formas pueden ser similares. Por ejemplo, las columnas abiertas en cromatografía de gases (OT) pueden ser de distintos tipos; de pared recubierta (WCOT), recubierta con soporte (SCOT) y de pared porosa (PLOT). En el caso de la relación señal ruido, dos acrónimos diferentes tienen el mismo significado: SNR, S/N y (S/R). El caso contrario ocurre con el acrónimo AES, que puede significar espectroscopia de emisión atómica o espectroscopia de electrones Auger. Estas técnicas son muy distintas en cuanto a su teoría, instrumentación y aplicaciones, y, por tanto, dentro del contexto de un determinado campo de aplicación o del tipo de medida no debería haber confusión entre las abreviaturas.

Acrónimos o abreviaturas	Nombre
AAS	Atomic Absorption Spectroscopy (Espectroscopia de Absorción Atómica)
ACS	American Chemical Society (Sociedad Americana de Química)
ADC	Analog-to-Digital Converter (Convertidor Analógico-Digital)
AED	Atomic Emission Detector (Detector de Emisión Atómica)
AES	Atomic Emission Spectroscopy (Espectroscopia de Emisión Atómica)
AES	Auger Electron Spectroscopy (Espectroscopia de Electrones Auger)
AFM	Atomic Force Microscopy (Microscopia de Fuerzas Atómicas)
AFS	Atomic Fluorescence Spectroscopy (Espectroscopia de Fluorescencia Atómica)
ALU	Arithmetic Logic Unit (Unidad Aritmético-Lógica)
amu	Atomic Mass Unit (unidad de masa atómica)
AOAC	Association of Official Analytical Chemists (Asociación Oficial de Químicos Analíticos)
ASCII	American Standard Code for Information Interchange (computers) (Código Estándar Americano para el Intercambio de Información) (ordenadores)
ASTM	American Society for Testing Materials (Sociedad Americana para Pruebas y Materiales)
ASV	Anodic Stripping Voltammetry (Voltamperometría de Redisolución Anódica)
ATR	Attenuated Total Reflectance (Reflectancia Total Atenuada)
BCD	Binary-Coded Decimal (Sistema Decimal Codificado en Binario)
BJT	Bipolar Junction Transistor (Transistor de Unión Bipolar)
BUN	Blood Urea Nitrogen (Nitrógeno Ureico en Sangre)
CARS	Coherent Anti-Stokes Raman Spectroscopy (Espectroscopia Raman Anti-Stokes Coherente)
CCD	Charge-Coupled Device (Dispositivo de Acoplamiento de Carga)
CE	Capillary Electrophoresis (Electroforesis Capilar)
CGE	Capillary Gel Electrophoresis (Electroforesis Capilar en Gel)
CHC	Chlorinated HydroCarbons (Hidrocarburos Clorados)
CI	Chemical Ionization source (Fuente de Ionización Química)
CID	Charge-Injection Device (Dispositivo de Inyección de Carga)
CIEF	Capillary IsoElectric Focusing electrophoresis (Isoelectroenfoque Capilar)
CITP	Capillary IsoTachoPhoresis (Isotacoforesis Capilar)
CL	ChemiLuminescence (Quimioluminiscencia)
CL	Confidence Level (Nivel de Confianza)
CL	Confidence Limit (Límite de Confianza)
CMC	Critical Micelle Concentration (Concentración Micelar Crítica)

Continúa

Acrónimos o abreviaturas	Nombre
CMRR	Common Mode Rejection Ratio (Fracción de Rechazo del Modo Común)
CPU	Central Processing Unit (Unidad Central de Procesamiento)
CRT	Cathode Ray Tube (Tubo de Rayos Catódicos)
CSP	Chiral Stationary Phase partition chromatography (Fase Estacionaria Quiral en Cromatografía de Reparto)
CT	Computerized Tomography (Tomografía Computarizada)
CTD	Charge Transfer Detector (Detector de Transferencia de Carga)
CV	Cyclic Voltammetry (Voltamperometría Cíclica)
CVD	Chemical Vapor Deposition (Deposición de Vapor Químico)
CW	Continuous Wave (laser) (Onda Continua) (láser)
CZE	Capillary Zone Electrophoresis (Electroforesis Capilar de Zona)
DAC	Digital-to-Analog Converter (Convertidor Digital a Analógico)
DBR	Distributed Bragg Reflector (Reflector de Bragg Distribuido)
DCP	Direct Current Plasma (Plasma de Corriente Continua)
DCPMS	Direct Current Plasma Mass Spectrometry (Plasma de Corriente Continua Espectrometría de Masas)
DCU	Decade Counting Unit (Unidad de Cálculo en Décadas)
DMCS	DiMethylChloroSilane (Dimetilclorosilano)
DME	Dropping Mercury Electrode (Electrodo de Gotas de Mercurio)
DMM	Digital MultiMeter (Multímetro Digital)
DNA (ADN)	DeoxyriboNucleic Acid (Ácido Desoxirribonucleico)
DPV	Differential Pulse Voltammetry (Voltamperometría Diferencial de Impulsos)
DRIFTS	Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy (Espectroscopia de Reflectancia Difusa en el Infrarrojo de Transformada de Fourier)
DSC	Differential Scanning Calorimetry (Calorimetría de Barrido Diferencial)
DTA	Differential Thermal Analysis (Análisis Térmico Diferencial)
DVM	Digital VoltMeter (Voltímetro Digital)
EAAS	Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry (Espectrometría de Absorción Atómica Electrotérmica)
EAROM	Electrically Alternable Read Only Memory (Memoria sólo de Lectura Modificable Eléctricamente)
EC	ElectroChromatography (Electrocromatografía)
ECD	Electron Capture Detector (Detector de Captura de Electrones)
EDL	Electrodeless Discharge Lamp (Lámpara de Descarga sin Electrodo)
EDTA	EthyleneDiamineTetraacetic Acid (Ácido Etilendiaminotetraacético)

Acrónimos o abreviaturas	Nombre
EDXFS	E nergy D ispersive X -ray F luorescence S pectroscopy (Espectroscopia de Fluorescencia de rayos X, instrumentos dispersivos de energías)
EI	E lectron I mpact, as in EI MS (Impacto de Electrones, como en EI MS)
ELSD	E vaporative L ight S cattering D etector (Detector de Luz Dispersada tras Evaporación)
EMI	E lectro M agnetic I nduction (Inducción Electromagnética)
EMR (REM)	E lectro M agnetic R adiation (Radiación Electromagnética)
EOF	E lectro O smotic F low (Flujo Electroosmótico)
EPA	E nvironmental P rotection A gency (Agencia de Protección Medioambiental)
EPROM	E lectronically P rogrammable R ead O nly M emory (Memoria Sólo de Lectura Borrable)
ESCA	E lectron S pectroscopy for C hemical A nálisis; XPS (Espectroscopia de Electrones para Análisis Químico; XPS)
ESI	E lectro S pray I onization mass spectrometry (Ionización por Electronebulización en Espectrometría de Masas)
ESR	E lectron S pin R esonance spectroscopy (Espectroscopia de resonancia de Espín Electrónico)
ETAAS	E lectro T hermal A tom ic A bsorption S pectroscopy (Espectroscopia de Absorción Atómica Electrotérmica)
ETAFS	E lectro T hermal A tom ic F luorescence S pectroscopy (Espectroscopia de Fluorescencia Atómica Electrotérmica)
ETV	E lectro T hermal V aporization (Vaporización Electrotérmica)
FAAS	F lame A tom ic A bsorption S pectroscopy (Espectroscopia de Absorción Atómica de Llama)
FAB	F ast A tom B ombardment (MS) (Bombardeo por Átomos Rápidos, MS)
FD	F ield D esorption (Desorción por Campo)
FDA	F ood and D rug A dministration (Agencia de Medicamentos y Alimentos)
FDJ	F ree D iffusion J unction (Unión de Difusión Libre)
FES	F lame E mission S pectroscopy (Espectroscopia de Emisión de Llama)
FET	F ield E ffect T ransistor (Transistor de Efecto de Campo)
FFP	F iberoptic F abry- P erot interferometer (Interferómetro de Fabry-Perot de Fibra Óptica)
FI	F ield I onization (MS) (Ionización por Campo, MS)
FIA	F low I njection A nalysis (Análisis por Inyección en Flujo)
FID	F lame I onization D etector (Detector de Ionización de Llama)
FID	F ree I nduction D ecay (Caída Libre de Inducción)

Continúa

Acrónimos o abreviaturas	Nombre
FL	FL uorescence (Fluorescencia)
FPD	Fl ame Ph otometric D etector (Detector Fotométrico de Llama)
FSOT	F used S ilica O pen T ubular column (Columna Abierta de Sílice Fundida)
FT	F ourier T ransform (Transformada de Fourier)
FTIR	F ourier T ransform I nfrared S pectroscopy (Espectroscopia en el Infrarrojo de Transformada de Fourier)
FT/NMR (FT/RMN)	F ourier T ransform N uclear M agnetic R esonance (Resonancia Magnética Nuclear de Transformada de Fourier)
FTIR-PAS	F ourier T ransform I nfra R ed P hoto A coustic S pectroscopy (Espectroscopia Fotoacústica en el Infrarrojo de Transformada de Fourier)
FTMS	F ourier T ransform M ass S pectrometry (Espectrometría de Masas de Transformada de Fourier)
FWHM	F ull W idth at H alf M aximum (Anchura en la Mitad del Máximo)
FY	F iscal Y ear (Año Fiscal)
GC	G as C hromatography (Cromatografía de Gases)
GC/FTIR	G as C hromatography/ F ourier T ransform I nfra R ed spectrometry (Cromatografía de Gases/Espectrometría en el Infrarrojo de Transformada de Fourier)
GC/IR	G as C hromatography/ I nfra R ed spectrometry (Cromatografía de Gases/Espectroscopia en el Infrarrojo)
GC/MS	G as C hromatography/ M ass S pectrometry (Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas)
GD	G low D ischarge (Descarga Luminiscente)
GDAAS	G low D ischarge A tomc A bsorption S pectroscopy (Espectroscopia de Absorción Atómica de Descarga Luminiscente)
GDAES	G low D ischarge A tomc E mission S pectroscopy (Espectroscopia de Emisión Atómica de Descarga Luminiscente)
GDMS	G low D ischarge M ass S pectrometry (Espectrometría de Masas de Descarga Luminiscente)
GLC	G as- L iquid C hromatography (Cromatografía Gas-Líquido)
GSC	G as- S olid C hromatography (Cromatografía Gas-Sólido)
HCL	H ollow C athode L amp (Lámpara de Cátodo Hueco)
HMDE	H anging M ercury D rop E lectrode (Electrodo de Gota Colgante de Mercurio)
HETP	H eight E quivalent to a T heoretical P late (Altura Equivalente del Plato Teórico)
HPLC	H igh- P erformance L iquid C hromatography (Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia)

Acrónimos o abreviaturas	Nombre
IC	Ion Chromatography (Cromatografía Iónica)
ICP	Inductively Coupled Plasma (Plasma de Acoplamiento Inductivo)
ICPAES	Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy (Espectroscopia de Emisión Atómica Plasma de Acoplamiento Inductivo)
ICPMS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (Espectrometría de Masas Plasma de Acoplamiento Inductivo)
IEC	Ion Exchange Chromatography (Cromatografía de Intercambio Iónico)
IEF	IsoElectric Focusing (Isoelectroenfoque)
IMA	IMmunoAssay (Inmunoanálisis)
IR	InfraRed (Infrarrojo)
ISE	Ion Selective Electrode (Electrodo Selectivo de Iones)
ISFET	Ion-Selective Field Effect Transistor (Transistor de Efecto de Campo Selectivo de Iones)
ITD	Ion Trap Detector (Detector de Trampa de Iones)
ITMS	Ion Trap Mass Spectrometry (Espectrometría de Masas de Trampa de Iones)
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada)
LA	Laser Ablation (Ablación por Láser)
LAN	Local Area Network (Redes locales)
LASS	LAser Spark Spectrometry (Espectrometría de Chispa con Láser)
LC	Liquid Chromatography (Cromatografía de Líquidos)
LC/MS	Liquid Chromatography/Mass Spectrometry (Cromatografía de Líquidos/Espectrometría de Masas)
LCD	Liquid Crystal Display (Pantalla de Cristal Líquido)
LCEC	Liquid Chromatography with Electrochemical Detection (Cromatografía de Líquidos con Detección Electroquímica)
LD	Laser Desorption source (Fuente de Desorción por Láser)
LED	Light Emitting Diode (Diodo Emisor de Luz)
LIBS	Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (Espectroscopia de Ruptura Dieléctrica Inducida por Láser)
LIF	Laser-Induced Fluorescence (Fluorescencia Inducida por Láser)
LIFI	Laser-Induced Fluorescence Imaging (Imagen por Fluorescencia Inducida por Láser)
LIMS	Laboratory Information Management Systems (Sistemas de Gestión de la Información en el Laboratorio)

Acrónimos o abreviaturas	Nombre
LIMS/DM	L aboratory I nformation M anagement S ystem/ D ata M anagement (Sistemas de Gestión de la Información en el Laboratorio/Gestión de Datos)
LIMS/SM	L aboratory I nformation M anagement S ystem/ S ample M anagement (Sistemas de Gestión de la Información en el Laboratorio/Gestión de Muestras)
LLL	L awrence L ivermore L ab
LMMS	L aser M icroprobe M ass S pectrometry (Espectrometría de Masas con Microsonda de Láser)
LOD	L imit O f D etection (Límite de Detección)
LOL	L imit O f L inearity (Límite de Linealidad)
LOQ	L imit O f Q uantitation (Límite de Cuantificación)
LSB	L east S ignificant B it (Dígito menos significativo)
LSER	L inear S olvation E nergy R elationships (Relaciones de Energía de Solvatación Lineal)
MALDI	M atrix- A ssisted L aser D esorption/ I onization (Desorción/Ionización por Láser Asistida por una Matriz)
MECC	M icellar E lectrokinetic C apillary C hromatography (Cromatografía Capilar Electrocínética Micelar)
MIP	M icrowave- I nduced P lasma S ource (Fuente de Plasma Inducido por Microondas)
MIPMS	M icrowave- I nduced P lasma source, M ass S pectrometry (Fuente de Plasma Inducido por Microondas, Espectrometría de Masas)
MOSFET	M etal O xide S emiconductor F ield E ffect T ransistor (Transistor de Efecto de Campo de Semiconductor de Óxido Metálico)
MRI (RMI)	M agnetic R esonance I maging (Imagen por Resonancia Magnética)
MS	M ass S pectrometry (Espectrometría de Masas)
MS/MS	M ass S pectrometry/ M ass S pectrometry (Espectrometría de Masas/Espectrometría de Masas)
MSB	M ost S ignificant B it (Dígito más significativo)
MSD	M ass S elective D etector (now called simply MS) (Detector Selectivo de Masas) (actualmente llamado MS)
NAA	N eutron A ctivation A nalysis (Análisis por Activación Neutrónica)
NAPL	N on- A queous P hase L iquid (Fase Líquida No Acuosa)
NBS	N ational B ureau of S tandards (the predecessor to NIST) (Oficina Nacional de Estándares) (el predecesor de NIST)
NIH	N ational I nstitutes of H ealth (Instituto Nacional de la Salud)

Continúa

Acrónimos o abreviaturas	Nombre
NIR	N ear I nfra R ed spectroscopy (Espectroscopia en el Infrarrojo Cercano)
NIST	N ational I nstitute of S tandards and T echnology (Instituto Nacional de Estándares y Tecnología)
NMR (RMN)	N uclear M agnetic R esonance (Resonancia Magnética Nuclear)
NRL	N aval R esearch L ab (Laboratorio de Investigación Naval)
NSF	N ational S cience F oundation (Fundación Nacional para la Ciencia)
NSOM	N ear-field S canning O ptical M icroscopy (Microscopia Óptica de Barrido de Campo Cercano)
OA	O perational A mplifier (Amplificador Operacional)
ODS	O cto D ecyl S ilane (Octadecilsilano)
ONR	O ffice of N aval R esearch (Oficina de Investigación Naval)
op amp	O perational A MPlifier (amplificador operacional)
OSHA	O ccupational S afety and H ealth A dministration (Agencia de Salud y Seguridad Laboral)
OT	O pen T ubular (Columna Abierta)
PAGE	P oly A crylamide G el E lectrophoresis (Electroforesis en Gel de Poliacrilamida)
PAH	P olynuclear A romatic H ydrocarbons (Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos)
PAS	P hoto A coustic S pectrometry (Espectrometría Fotoacústica)
PAWS	P ortable A coustic W ave S ensor (Sensor de Ondas Acústicas Portátil)
PC	P aired-ion C hromatography (Cromatografía de Pares iónicos)
PC	P aper C hromatography (Cromatografía en Papel)
PCE	P er C hloro E thylene (Percloroetileno)
PCF	P lasma C entrifugal F urnace (Horno de Plasma Centrífugo)
PD	P lasma D esorption (Desorción por Plasma)
PDA	P hoto D iode A rray (Fotodiodos en Serie)
PI	P rincipal I nvestigator (Investigador Principal)
PID	P hoto I onization D etector (Detector de Fotoionización)
PITTCON	P ITTsbu R gh C ONference on A nalytical C hemistry and A ppplied S pectroscopy (Conferencia de Pittsburgh de Química Analítica y Espectroscopia Aplicada)
PLOT	P orous L ayer O pen T ubular column (Columna Abierta de Pared Porosa)
PLS	P artial L east S quares (Mínimos Cuadrados Parciales)
PM	P hoto M ultiplier tube (Tubo Fotomultiplicador)
PMT	P hoto M ultiplier T ube (Tubo Fotomultiplicador)
PNA	(P oly N uclear A romatics) (Policiclos Aromáticos)
ppm	P arts P er M illion (partes por millón)

Acrónimos o abreviaturas	Nombre
PROM	Program Read Only Memory (Programa de Memoria sólo de Lectura)
QCM	Quartz Crystal Microbalance (Microbalanza de Cristal de Cuarzo)
R&D	Research and Development (Investigación y Desarrollo)
RAM	Random Access Memory (Memoria de Acceso Aleatorio)
RID	Refractive Index Detector (Detector de Índice de Refracción)
ROM	Read Only Memory (Memoria Sólo de Lectura)
RPC	Reverse Phase Chromatography (Cromatografía en Fase Inversa)
RRS	Resonance Raman Spectroscopy (Espectroscopia de Resonancia Raman)
RSD	Relative Standard Deviation (Desviación Estándar Relativa)
RTR	Real-Time Radiography (Radiografía en Tiempo Real)
SAW	Surface Acoustic Wave (Onda Acústica de Superficie)
SCD	Sulfur Chemiluminescence Detector (Detector de Quimioluminiscencia del Azufre)
SCE (ECS)	Saturated Calomel Electrode (Electrodo de Calomelanos Saturado)
SCF	SuperCritical Fluid (Fluido Supercrítico)
SCOT	Support Coated Open Tubular (Columna Abierta Recubierta con Soporte)
SCP	SCanning Probe microscopy (Microscopia de Sonda de Barrido)
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate (Dodecilsulfato de Sodio)
SEAC	Society for ElectroAnalytical Chemistry (Sociedad de Química Electroanalítica)
SEC	Size Exclusion Chromatography (Cromatografía de Exclusión por Tamaño)
SEM	Scanning Electron Microscope (Microscopio Electrónico de Barrido)
SERS	Surface Enhanced Raman Spectroscopy (Espectroscopia Raman de Superficie Aumentada)
SFC	Supercritical Fluid Chromatography (Cromatografía de Fluidos Supercríticos)
SFE	Supercritical Fluid Extraction (Extracción con Fluidos Supercríticos)
SGE	Slab Gel Electrophoresis (Electroforesis Convencional en Gel)
SHE (ENH)	Standard Hydrogen Electrode (Electrodo Normal de Hidrógeno)
SIMS	Secondary Ion Mass Spectrometry (Espectrometría de Masas de Ion Secundario)
SNR o S/N,(S/R)	Signal-to-Noise Ratio (Relación Señal Ruido)
SPE	Solid Phase Extraction (Extracción en Fase Sólida)
SPM	Scanning Probe Microscopy (Microscopia de Sonda de Barrido)
SSMS	Spark Source Mass Spectrometry (Espectrometría de Masas de Fuente de Chispa)
STM	Scanning Tunneling Microscope (or Microscopy) (Microscopia o Microscopio de Barrido de Efecto Túnel)

Acrónimos o abreviaturas	Nombre
STP	Standard Temperature and Pressure (Presión y Temperatura Normales)
TA	Thermal Análisis (Análisis Térmico)
TCD	Thermal Conductivity Detector (Detector de Conductividad Térmica)
TCE	TriChloroEthylene (Tricloroetileno)
TDGC/MS	Time Domain Gas Chromatography/Mass Spectrometry (Cromatografía de Gases en el Dominio del Tiempo/Espectrometría de masas)
TDR	Time Domain Reflectometry (Reflectometría en el Dominio del Tiempo)
TG	ThermoGravimetry (Termogravimetría)
TGA	ThermoGravimetric Análisis (Análisis Termogravimétrico)
TID	ThermIonic Detector (Detector Termoiónico)
TIMS	Thermal Ionization Mass Spectrometry (Espectrometría de Masas de Ionización Térmica)
TISAB	Total Ionic Strength Adjusting Buffer (Disolución Reguladora para el Ajuste de la Fuerza Iónica Total)
TLC	Thin-Layer Chromatography (Cromatografía en Capa Fina)
TMA	ThermoMechanical Análisis (Análisis Termomecánico)
TMS	TetraMethylSilane (Tetrametilsilano)
TOF	Tíme-Of-Flight, mass spectrometry (Tiempo de Vuelo, Espectrometría de Masas)
TS	Thermospray Source (Fuente de Termonebulización o Termovaporización)
UPS	Ultraviolet Photoelectron Spectroscopy (Espectroscopia Fotoelectrónica Ultravioleta)
USDA	United States Department of Agriculture (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos)
USGS	United States Geological Survey (Inspección de Geología de los Estados Unidos)
UV	UltraViolet (Ultravioleta)
VOC	Volatile Organic Compound (Compuestos Orgánicos Volátiles)
VOST	Volatile Organic Sampling Train (Muestreador de Compuestos Orgánicos Volátiles)
WCOT	Wall Coated Open Tubular column (Columna Abierta de Pared Recubierta)
XES	X-Ray Emission Spectrometry (Espectrometría de Emisión de rayos X)
XFS	X-Ray Fluorescence Spectroscopy (Espectroscopia de Fluorescencia de rayos X)
XPS	X-Ray Photoelectron Spectroscopy (Espectroscopia Fotoelectrónica de rayos X)
XRF	X-Ray Fluorescence (Fluorescencia de rayos X)
YAG	Yttrium Aluminum Garnet (Granate de Aluminio e Itrio)
ZDV	Zero Dead Volume (Volumen Muerto Cero)

Respuestas a los problemas seleccionados

Capítulo 1

1-9. (a) $m = 0,0670 \text{ ppm}^{-1}$
(b), (c)

c_x, ppm	$\gamma = m/s_x$	CV, %
2,00	7,1	5,4
6,00	8,0	2,0
10,00	8,0	1,2
14,00	7,9	0,89
18,00	6,1	0,88

(d) $c_m = 0,35 \text{ ppm X}$

1-10. $c_x = 9,00 \times 10^{-4} \text{ M}$

1-11. (c) $S_F = 3,16(\pm 0,02)V_s + 3,25(\pm 0,02)$

(d) $0,410 \mu\text{g/mL}$

(e) $0,003 \mu\text{g/mL}$

Capítulo 2

2-1. (a) $R_1 = 50 \Omega$; $R_2 = 200 \Omega$; $R_3 = 250 \Omega$

(b) $5,0 \text{ V}$

(c) $0,020 \text{ A}$

(d) $0,20 \text{ W}$

2-2. (a) $4,4 \text{ V}$

(b) $0,039 \text{ W}$

(c) 30%

- 2-3. (a) -15 %
(b) -1,7 %
(c) -0,17 %

- 2-4. (a) 74 k Ω
(b) 740 k Ω

- 2-5. (a) $V_1 = 1,21$ V; $V_2 = V_3 = 1,73$ V; $V_4 = 12,1$ V
(b) $I_1 = I_5 = 1,21 \times 10^{-2}$ A; $I_2 = 3,5 \times 10^{-3}$ A; $I_3 = I_4 = 8,6 \times 10^{-3}$ A
(c) $P = 1,5 \times 10^{-2}$ W
(d) 2,9 V

- 2-6. (a) 0,085 W
(b) $8,0 \times 10^{-3}$
(c) 8,00 V
(d) 5,3 V
(e) 16 V

- 2-7. 0,535 V

- 2-10. (a) 20 k Ω
(b) 1,98 M Ω

- 2-11. -0,4 %

- 2-12. -3,7 %

2-13. t , s	0,00	0,01	0,10	1,0	10
I , μ A	2,40	2,39	2,28	1,46	$1,62 \times 10^{-2}$

- 2-14. (a) 0,69 s
(b) 0,069 s
(c) $6,9 \times 10^{-5}$ s

- 2-15. (a) 0,15 s
(b) 0,015 s
(c) $1,5 \times 10^{-5}$ s

2-16. (a) 1,75 min				
(b)	t , min	i , μ A	v_R , V	v_C , V
	0	500	25,0	0,0
	1	282	14,1	11
	2	159	8,0	17
	3	90	4,5	20
	4	51	2,5	22
	5	29	1,4	24
	10	1,6	0,08	24,9

2-17. (a) 1,00 s

(b)	$t, \text{ min}$	$i, \mu\text{A}$	$v_R, \text{ V}$	$v_C, \text{ V}$
	0	0,75	15,0	0,0
	1	0,28	5,5	9,5
	2	0,10	2,0	13,0
	3	$3,7 \times 10^{-2}$	0,75	14,2
	4	$1,4 \times 10^{-2}$	0,27	14,7
	5	$5,0 \times 10^{-3}$	0,10	14,9
	10	$3,0 \times 10^{-5}$	0,00	15,0

2-18.

	X_C, Ω	Z, Ω	$\Phi, \text{ V}$
(a)	$4,8 \times 10^6$	$4,8 \times 10^6$	-90
(b)	$4,8 \times 10^3$	$2,1 \times 10^4$	-13,6
(c)	4,8	$2,0 \times 10^4$	0,0
(d)	$4,8 \times 10^6$	$4,8 \times 10^6$	-90
(e)	$4,8 \times 10^3$	$4,8 \times 10^3$	-87,6
(f)	4,8	$2,0 \times 10^2$	-1,4
(g)	$4,8 \times 10^5$	$4,8 \times 10^5$	-90
(h)	$4,8 \times 10^2$	$2,1 \times 10^3$	-13,6
(i)	0,48	$2,0 \times 10^3$	0,0

2-19.

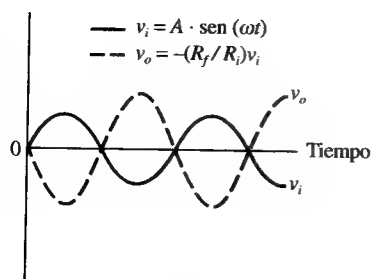
$(V_p)_o/(V_p)_i$	f	$(V_p)_o/(V_p)_i$	f
0,01	$4,2 \times 10^3$	0,60	57
0,10	$4,2 \times 10^2$	0,80	32
0,20	$2,1 \times 10^2$	0,90	21
0,40	97	0,99	6,1

2-20.

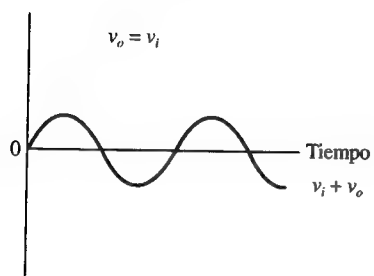
$(V_p)_o/(V_p)_i$	f	$(V_p)_o/(V_p)_i$	f
0,01	$1,6 \times 10^1$	0,60	$1,2 \times 10^3$
0,10	$1,6 \times 10^2$	0,80	$2,1 \times 10^3$
0,20	$3,2 \times 10^2$	0,90	$3,3 \times 10^3$
0,40	$7,0 \times 10^2$	0,99	$1,1 \times 10^4$

Capítulo 3

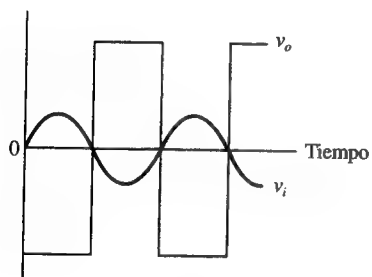
3-1.



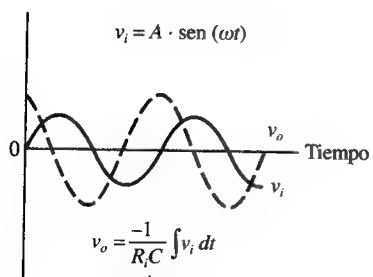
(a)



(b)

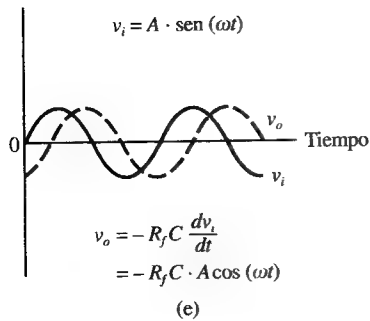


(c)



$$\begin{aligned} v_o &= \frac{-1}{R_i C} \int v_i dt \\ &= \frac{-A}{R_i C} -\cos(\omega t) \\ &= \frac{A}{R_i C} \cos(\omega t) \end{aligned}$$

(d)

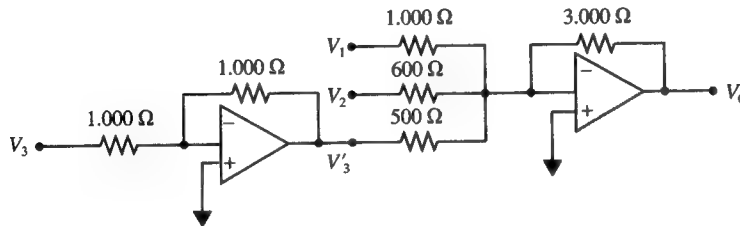


- 3-2. (a) $v_o \cong -27,3 \text{ mV}$ o $-23,6 \text{ mV}$ cuando se consideran valores relativamente pequeños de A
 (b) $0,910 \mu\text{A}$
 (c) $0,910 \mu\text{A}$

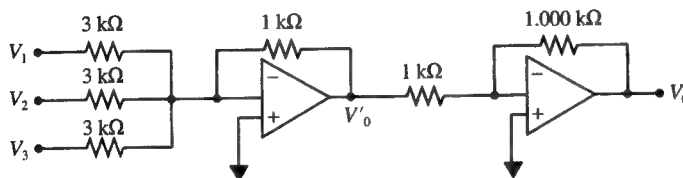
- 3-3. $t_r = 6,7 \text{ ns}$; $dV/dt = 1.500 \text{ V}/\mu\text{s}$ (considerando una variación de 10 V en $6,7 \text{ ns}$)

- 3-4. $+0,04 \%$

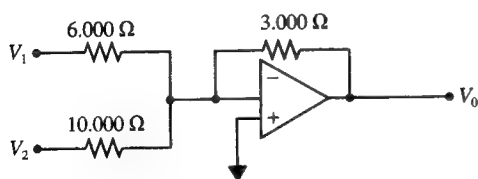
- 3-5.



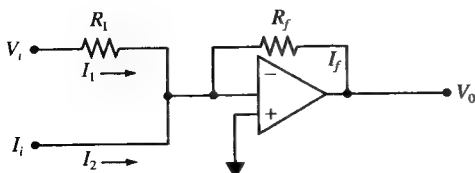
- 3-6.



- 3-7.



- 3-8. $R_f = 1,00 \text{ k}\Omega$ y $R_i = 250 \Omega$

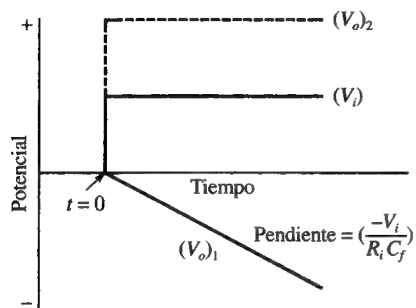


3-9. (a) $V_o = \frac{V_1 R_{f1} R_{f2}}{R_1 R_4} + \frac{V_2 R_{f1} R_{f2}}{R_2 R_4} - \frac{V_3 R_{f2}}{R_3}$

(b) $V_o = V_1 + 4V_2 - 40V_3$

3-10. $V_o = 10V_1 + 6V_2 - 3V_3 - 2V_4$

3-11.



3-12. $V_o = \left(\frac{R_1 + R_2}{R_1} \right) V_i$

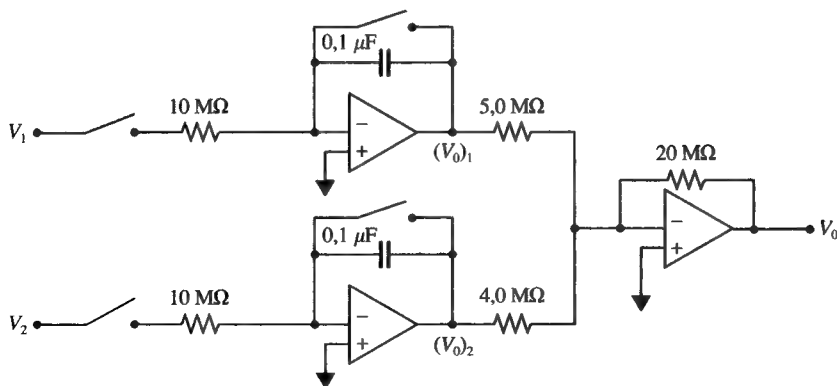
3-13. $V_o = - \left(\frac{X}{R - X} \right) V_i$

3-14. $V_o = -(5V_1 + 20V_2) \int_0^t dt$

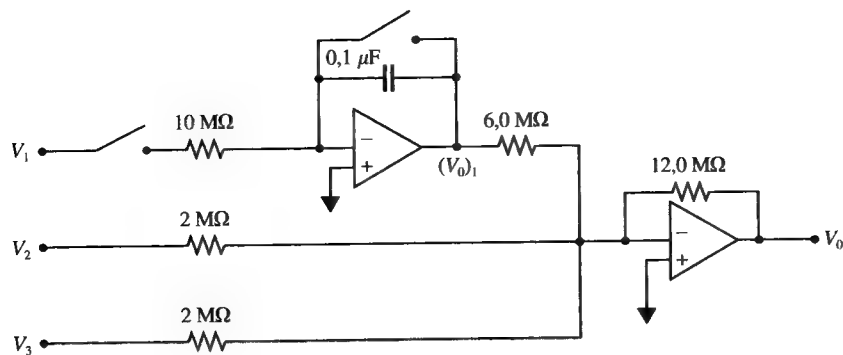
3-15. $V_o = V_2 - V_1$

3-16. 34 cm de la tierra.

3-17.



3-18.



3-19. V_o después 1, 3, 5 y 7 s es -8 , -24 , -40 y -56 mV, respectivamente.

Capítulo 4

- 4-1. (a) 11000
(b) 1001111
(c) 10001000
(d) 1001000101

- 4-2. (a) 5
(b) 21
(c) 226
(d) 841

- 4-3. (a) 0,039 V
(b) 0,0024 V
(c) 0,00015 V

- 4-6. (a) 1 Hz
(b) 20 Hz

- 4-7. 62,5 kHz

- 4-8. (a) 68;719;476;736
(b) $1,84 \times 10^{19}$

Capítulo 5

- 5-7. (a) $S/N = 358$
(b) $n = 18$

- 5-8. (a) $S/N = 5,3$
(b) $n = 28$

- 5-9.** (a) $1,28 \times 10^{-4}$ V; el ruido se reduciría por un factor de 100
- 5-10.** $n = 100$
- 5-11.** $(S/N)_{50} = 7,1(S/N)_1$; $(S/N)_{200} = 14,1(S/N)_1$
- 5-12.** $(S/N)_D = 30(S/N)_A$
- 5-13.** (a) 100 puntos
(b) 200 puntos

Capítulo 6

- 6-2.** $1,11 \times 10^{18}$ Hz; $7,36 \times 10^{-16}$ J; $4,59 \times 10^3$ eV
- 6-3.** $\nu = 5,246 \times 10^{13}$ Hz
 $\bar{\nu} = 1.750 \text{ cm}^{-1}$
 $E = 3,476 \times 10^{-20}$ J
 $E = 20,93$ kJ/mol
- 6-4.** $\lambda = 136$ cm
 $E = 1,46 \times 10^{-25}$ J
- 6-5.** $\nu_{\text{cub}} = 2,10 \times 10^{10} \text{ cm s}^{-1}$
 $\nu = 5,09 \times 10^{14}$ Hz
 $\lambda = 413$ nm
- 6-6.** 2,42
- 6-7.** 167 nm
- 6-8.** 469 nm
- 6-9.** (a) $9,63 \times 10^{-20}$ J
(b) $4,60 \times 10^5$ m/s
- 6-10.** 2,4 μm
- 6-11.** (a) 436 nm
(b) 448 nm
- 6-12.** 17,3 %
- 6-14.** (a) 42,2 %
(b) 4,73 %
(c) 97,3 %
- 6-15.** (a) 0,474
(b) 0,0357
(c) 1,76

- 6-16. (a) 64,9 %
(b) 21,8 %
(c) 99 %
- 6-17. (a) 0,775
(b) 0,337
(c) 2,06
- 6-18. $3,89 \times 10^{-3} \text{ M}$
- 6-19. $1,98 \times 10^{-4} \text{ M}$

Capítulo 7

- 7-3. (a) 725 nm
(b) 1,45 μm
(c) 2,90 μm
- 7-4. (a) $1,46 \times 10^7 \text{ W/m}^2$
(b) $9,10 \times 10^5 \text{ W/m}^2$
(c) $5,69 \times 10^4 \text{ W/m}^2$
- 7-5. (a) 1.010 y 967 nm
(b) $3,86 \times 10^6 \text{ W/m}^2$ y $4,61 \times 10^6 \text{ W/m}^2$
- 7-9. (a) 1,69 μm (b) 2,27 μm , 0,151 μm , etc.
- 7-10. Para el primer orden de interferencia, el espesor debería disminuir linealmente de 0,265 μm a 1,52 μm
- 7-13. $\lambda/\Delta\lambda = 720$; 1,39 cm^{-1}
- 7-14. (a) 15,4 y 7,7 μm
(b) 10,6 y 5,3 μm
- 7-16. $f = 1,95$
- 7-17. La segunda lente tiene un poder de captación de luz que es 2,5 veces el de la primera.
- 7-18. (a) $R = 2,50 \times 10^4$
(b) $D_1^{-1} = 0,50 \text{ nm/mm}$; $D_2^{-1} = 0,25 \text{ nm/mm}$
- 7-19. (a) $D^{-1} = 0,77 \text{ nm/mm}$
(b) $R = 6,0 \times 10^4$
(c) $\Delta\lambda = 0,0093 \text{ nm}$
- 7-22. (a) $8,33 \times 10^4 \text{ Hz}$ (c) $3,33 \times 10^3 \text{ Hz}$
(b) $3,57 \times 10^4 \text{ Hz}$ (d) $1,25 \times 10^3 \text{ Hz}$

- 7-23. (a) 2,1 cm
(b) 0,313 cm

Capítulo 8

- 8-8. (a) 0,028 Å
(b) 0,033 Å
- 8-9. Para Na y Mg^+ , respectivamente, N_j/N_0
(a) $2,7 \times 10^{-5}$; $7,1 \times 10^{-11}$
(b) $6,6 \times 10^{-4}$; $6,1 \times 10^{-8}$
(c) $5,1 \times 10^{-2}$; $5,7 \times 10^{-4}$
- 8-10. (a) $N_{4s}/N_{3s} = 1,2 \times 10^{-5}$
(b) $N_{4s}/N_{3s} = 1,8 \times 10^{-2}$

Capítulo 9

- 9-11. 104 mm

9-12.	Altura	T, K	$I_{(x \text{ cm})}/I_{(2 \text{ cm})}$
(a)	2,0	1.973	1,00
(b)	3,0	2.136	2,07
(c)	4,0	2.092	1,72
(d)	5,0	1.998	1,13

9-14.	Na	Mg^+
(a)	$2,7 \times 10^{-5}$	$7,1 \times 10^{-11}$
(b)	$6,6 \times 10^{-4}$	$6,1 \times 10^{-8}$
(c)	$5,1 \times 10^{-2}$	$5,7 \times 10^{-4}$

- 9-15. (a) $1,2 \times 10^{-5}$
(b) $1,8 \times 10^{-2}$

- 9-16. 0,099 ($\pm 0,008$) $\mu\text{g Pb/mL}$

- 9-20. 0,297 ppm

- 9-21. (b) $R = 0,920 c_{\text{Na}_2\text{O}} + 3,18$
 (c) $s_m = 0,015$; $s_r = 0,96$; $s_b = 0,74$
 (d)

	A	B	C
%Na ₂ O	0,257	0,389	0,736
<i>s</i>	0,013	0,012	0,015
(<i>S_c/c</i>) × 100 %	4,9 %	3,2 %	2,0 %

- 9-22. (b) $A = 8,81 \times 10^{-3} \text{ mL} + 0,202$
 (c) $s_m = 4,1 \times 10^{-5}$; $s_r = 1,3 \times 10^{-3}$
 (d) 28,0 ppm de Cr
 (e) 0,22 ppm de Cr

Capítulo 12

12-1. $\lambda_0 = 0,155 \text{ \AA}$

12-2.	K _β , kV	L _β , kV
(a)	112	17,2
(b)	3,59	No hay línea
(c)	15,0	1,75
(d)	67,4	9,67

- 12-3. (a) 2,5 Å
 (b) 1,6 Å
 (c) 1,1 Å
 (d) 1,0 Å
 (e) 0,54 Å
 (f) 0,47 Å

- 12-4. (a) 24 Å
 (b) 14 Å
 (c) 8,9 Å
 (d) 8,3 Å
 (e) 4,0 Å
 (f) 3,5 Å

12-5. $2,3 \times 10^{-3} \text{ cm}$

- 12-6. (a) 3,94 cm²g
 (b) 0,126

12-7. $2,73 \times 10^{-3} \text{ cm}$

- 12-8.** (a) 1,39 %
(b) 0,261 %
- 12-9.** Para Fe, Se y Ag, respectivamente
(a) 80,9; 42,9; y 21,1 grados
(b) 51,8; 28,5; y 14,2 grados
(c) 36,4; 20,3; y 10,1 grados
- 12-10.** (a) 135 grados
(b) 99,5 grados
- 12-11.** (a) 4,05 kV
(b) 1,32 kV
(c) 20,9 kV
(d) 25,0 kV
- 12-12.** 0,300 ($\pm 0,002$)% de Mn

Capítulo 13

- 13-1.** (a) 88,9 %
(b) 12,1 %
(c) 41,8 %
(d) 54,8 %
(e) 32,7 %
(f) 19,9 %
- 13-2.** (a) 0,593
(b) 0,246
(c) 0,484
(d) 1,45
(e) 1,07
(f) 0,269
- 13-3.** (a) 79,1 %
(b) 1,46 %
(c) 17,5 %
(d) 30,1 %
(e) 10,7 %
(f) 39,4 %
- 13-4.** (a) 0,894
(b) 0,547
(c) 0,785
(d) 1,75
(e) 1,37
(f) 0,570

13-5. $1,80 \times 10^4 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$

13-6. $1,57 \times 10^3$

- 13-7. (a) 0,582
(b) 26,2 %
(c) $1,25 \times 10^{-5} \text{ M}$

- 13-8. (a) 0,175
(b) 0,350
(c) 66,8 % y 44,7 %
(d) 0,476

13-9. 0,059

- 13-10. (a) 34,4 %
(b) 6,92 %
(c) $2,90 \times 10^3$

13-11. (a)

$c_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}, \text{ M}$	A_{430}	A_{600}
$3,00 \times 10^{-4}$	1,54	1,06
$2,00 \times 10^{-4}$	0,935	0,777
$1,00 \times 10^{-4}$	0,383	0,455
$0,500 \times 10^{-4}$	0,149	0,261
$0,250 \times 10^{-4}$	0,056	0,145

13-12.

$c_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}, \text{ M}$	A_{345}	A_{370}	A_{400}
$4,00 \times 10^{-4}$	0,826	1,649	0,621
$3,00 \times 10^{-4}$	0,654	1,352	0,512
$2,00 \times 10^{-4}$	0,470	1,018	0,388
$1,00 \times 10^{-4}$	0,266	0,613	0,236

- 13-25. (a) $1,69 \mu\text{m}$
(b) 2,27; 1,51; $1,13 \mu\text{m}$, etc.

Capítulo 14

- 14-1. (b) $A = 0,0781 c_{\text{Fe}} + 0,0148$
(c) $1,23 \times 10^{-2}$
(d) $8,1 \times 10^{-4}$

14-2.	c_{Fe} , ppm	s_c	s_c (media de 3)
(a)	1,18	0,20	0,15
(b)	9,04	0,17	0,11
(c)	19,5	0,20	0,15

14-4. 20,1 ppm

14-5. $1,84 \times 10^{-3} \%$

14-6. (a) $8,82 \times 10^{-5}$ M Ni y $8,88 \times 10^{-5}$ M Co
(b) $9,8 \times 10^{-5}$ M Ni y $1,66 \times 10^{-4}$ M Co

14-7. (a) $[A] = 7,65 \times 10^{-5}$ [B] = $2,34 \times 10^{-5}$
(b) $[A] = 5,45 \times 10^{-5}$ [B] = $3,75 \times 10^{-5}$

14-8. (a) A 485 nm, $\epsilon_{\text{In}} = 104$ y $\epsilon_{\text{HIn}} = 908$
A 625 nm, $\epsilon_{\text{HIn}} = 1.646$ y $\epsilon_{\text{HIn}} = 352$
(b) $K_a = 2,07 \times 10^{-6}$
(c) pH = 3,735
(d) $K_a = 2,33 \times 10^{-6}$
(e) $A_{475} = 0,091$ y $A_{625} = 0,306$

14-9. (a) 1,4 %
(b) 1,4 %
(c) 7,6 %
(d) 3,0 %
(e) 67 %
(f) 40 %

14-12. $1,80 \times 10^8$

14-13. $1,53 \times 10^6$

Capítulo 15

15-6. (b) $I = 22,43 c + 0,03107$
(c) $s_m = 0,45$; $s_r = 0,29$; $s_b = 0,23$
(d) 0,541
(e) 0,026
(f) 0,018

15-7. (b) $I = 0,970 c_x + 6,13$
(c) $s_m = 0,030$; $s_b = 0,28$; $s_y = 0,336$
(d) 1,39 ppm Zn^{2+}
(e) 0,077 ppm Zn^{2+}

15-8. (c) $R = -8,96 c_F + 66,5$
(d) $s_m = 0,198$; $s_r = 0,664$; $s_b = 0,556$

- (e) 14,8 ppb de F^-
- (g) 0,35 ppb de F^-

15-9. $2,83 \times 10^{-5} \text{ M}$

Capítulo 16

- 16-1. (a) $1,91 \times 10^3 \text{ N/m}$
(b) $2,08 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$

- 16-2. (a) $4,81 \times 10^2 \text{ N/m}$
(b) $2,07 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$

- 16-3. (a) inactiva
(b) activa
(c) activa
(d) activa
(e) inactiva
(f) activa
(g) inactiva

16-4. $3,03 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ y $2,85 \times 10^3$ a $3,33 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$

16-5. $1,4 \times 10^4 \text{ cm}^{-1}$ o $0,70 \text{ }\mu\text{m}$

16-6. $1,3 \times 10^4 \text{ cm}^{-1}$ o $0,75 \text{ }\mu\text{m}$

16-7. 3 picos

- 16-9. (a) 25 cm
(b) 0,25 cm

- 16-10. (a) $N_1/N_0 = 8,9 \times 10^{-7}$
(b) $N_2/N_0 = 7,9 \times 10^{-13}$

16-12. 1.600

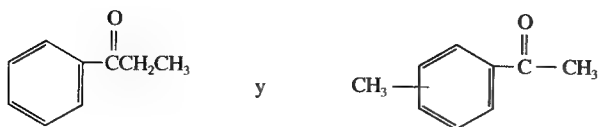
- 16-13. (a) 3.400 Hz
(b) 3.420 Hz
(c) 3.430 Hz

Capítulo 17

- 17-1. (a) $C=O$ alargamiento
(b) CCl_4 , $CHCl_3$, C_6H_{12} , $C_2H_4Cl_4$
(c) 0,015 mg/mL

17-2. alcohol vinílico, $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2\text{O}$

17-3.



17-4. acroleína $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CHO}$ con H_2O como contaminante

17-5. propanonitrilo $\text{CH}_3\text{CH}_2\equiv\text{N}$

17-9. 0,0071 cm

17-10. 0,021 cm

17-11. $7,9 \times 10^{-3}$ cm

Capítulo 18

18-3.

$\Delta\bar{\nu}$, cm^{-1}	(a)		(b)	
	Stokes, nm	Anti-Stokes, nm	Stokes, nm	Anti-Stokes, nm
218	641,7	624,2	493,2	482,9
314	645,6	620,5	495,6	480,6
459	651,7	614,9	499,2	477,3
762	664,9	603,7	506,8	470,5
790	666,1	602,7	507,6	469,9

18-4. (a) 2,83

(b) La eficacia del sistema de detección es dependiente de la longitud de onda

18-6. (a) 0,342 a 20 °C y 0,367 a 40 °C

(b) 0,105 y 0,121

(c) 0,0206 y 0,0264

18-7. (a) $I_{\perp}/I_{\parallel} = 0,77$

(b) $I_{\perp}/I_{\parallel} = 0,012$ polarizada

(c) $I_{\perp}/I_{\parallel} = 0,076$ polarizada

(d) $I_{\perp}/I_{\parallel} = 0,76$

Capítulo 19

19-6. Seis estados de espín; $m = 5/2, 3/2, 1/2, -1/2, -3/2, -5/2$

- 19-7. (a) $1,0 \times 10^8 \text{ Hz}$
 (b) $2,6 \times 10^7 \text{ Hz}$
 (c) $9,6 \times 10^7 \text{ Hz}$
 (d) $4,1 \times 10^7 \text{ Hz}$

19-9. $N_j/N_0 = 0,9999959$

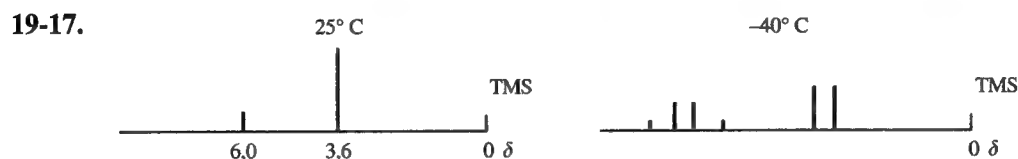
19-13. $\Delta E(^{13}\text{C})/\Delta E(^1\text{H}) = 0,251$

- 19-14. (a) $\nu_0(^{19}\text{F}) = 200 \text{ MHz}$
 (b) $\nu_0(^{31}\text{P}) = 86 \text{ MHz}$

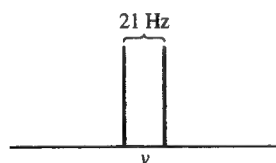
19-15. $N_j/N_0 = 0,99999109$

19-16. $\nu_0(^{31}\text{P}) = 24 \text{ MHz}$ y $\nu_0(^1\text{H}) = 59 \text{ MHz}$

La señal del ^1H será mucho más intensa que la señal del ^{31}P y se desdoblará en un doblete. La señal del ^{31}P se compone de diez picos cuyas áreas son proporcionales a los coeficientes de expansión de $(1+x)^9$.

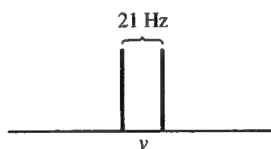


19-18. Espectro de ^1H a $\sim 130 \text{ MHz}$

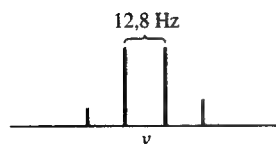


(a)

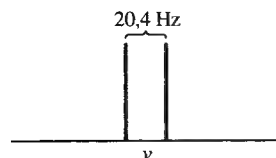
Espectro de ^{19}F a $\sim 120 \text{ MHz}$



(b)

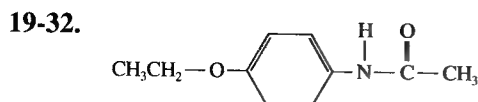
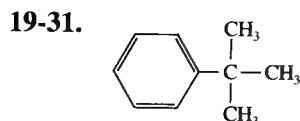
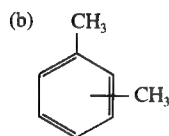
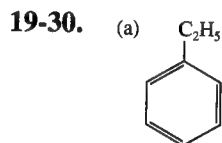


(c)



10 picos con áreas proporcionales a los coeficientes de expansión de $(1+x)^9$

- 19-22. (a) Doblete (área $\propto$ 3) a $\delta = 2,2$ y cuartete (área $\propto$ 1) a $\delta = 9,7$ a $9,8$ (relación de áreas 1:3:3:1)
 (b) Singulete (área $\propto$ 3) a $\delta = 2,2$ y un singulete (área $\propto$ 1) a $\delta = 11$ a 12 .
 (c) Triplete (área $\propto$ 3) a $\delta = 1,6$ (relación de las áreas 1:2:1) y un cuartete (área $\propto$ 2) a $\delta = 4,4$ (relación de las áreas 1:3:3:1)
- 19-23. (a) Singulete a $\delta = 2,1$
 (b) Singulete (área $\propto$ 3) a $\delta = 2,1$, cuartete (área $\propto$ 2) a $\delta = 2,4$ (relación de las áreas 1:3:3:1) y un triplete (área $\propto$ 3) a $\delta = 1,1$ (relación de las áreas 1:2:1)
 (c) Singulete (área $\propto$ 3) a $\delta = 2,1$ doblete (área $\propto$ 6) a $\delta = 1,1$ y 7 picos (área $\propto$ 1) centrado a $\delta = 2,6$ (relación de áreas 1:7:21:35:35:21:7:1)
- 19-24. (a) Singulete a $\delta = 1,2$ a $1,4$.
 (b) Singuletes a $\delta = 3,2$ y $3,4$ con áreas de pico en relación 3:2 respectivamente
 (c) Triplete (área $\propto$ 3) a $\delta = 1,2$ y un cuartete (área $\propto$ 2) a $\delta = 3,4$
- 19-25. (a) Singuletes a $\delta = 2,2$ y $6,5$ a 8 con áreas de pico en relación de 3:5 respectivamente
 (b) Triplete (área $\propto$ 3) a $\delta = 1,1$ cuartete (área $\propto$ 2) a $\delta = 2,6$ y un singulete (área $\propto$ 5) a $\delta = 6,5$ a 8
 (c) Doblete (área $\propto$ 9) a $\delta = 0,9$ a 1 y 10 picos (área $\propto$ 1) a $\delta = 1,5$



Capítulo 20

- 20-4. (a) 140 V
- 20-5. (a) de 0,126 T a 0,498 T
(b) de 3.000 V a 192 V
- 20-6. 4,48 V
- 20-7. 42,7 μs
- 20-10. (a) $2,22 \times 10^3$
(b) 769
(c) $7,09 \times 10^4$
(d) 992
- 20-11. (a) 1,96
(b) 1,30
- 20-14. (b) 80,92
- 20-15. $m = 131$ debido a $^{35}\text{Cl}_3\text{CCH}_2^+$, $m = 133$ debido a $^{37}\text{Cl}^{35}\text{Cl}_2\text{CCH}_2^+$,
 $m = 135$ debido a $^{37}\text{Cl}_2^{35}\text{ClCCH}_2^+$, $m = 117$ debido a $^{35}\text{Cl}_3\text{C}^+$,
 $m = 119$ debido a $^{37}\text{Cl}^{35}\text{Cl}_2\text{C}^+$, $m = 121$ debido a $^{37}\text{Cl}_2^{35}\text{ClC}^+$
- 20-16. $m = 84$ debido a $^{35}\text{Cl}_2^{12}\text{CH}_2^+$, $m = 85$ debido a $^{35}\text{Cl}_2^{13}\text{CH}_2^+$
 $m = 86$ debido a $^{37}\text{Cl}^{35}\text{Cl}^{12}\text{CH}_2^+$, $m = 87$ debido a $^{37}\text{Cl}^{35}\text{Cl}^{13}\text{CH}_2^+$
 $m = 88$ debido a $^{37}\text{Cl}_2^{12}\text{CH}_2^+$

Capítulo 21

- 21-4. (a) 165,4 eV
(b) SO_3^{2-}
(c) 1.306,6 eV
(d) 1.073,5 eV
- 21-5. (a) 406,3 eV
(b) 819,5 eV
(c) 403,4 eV

Capítulo 22

- 22-1. (a) 0,691 V
(b) 0,598 V
(c) 0,132 V

- 22-2.** (a) 0,033 V
(b) 0,998 V
(c) 0,493 V
- 22-3.** (a1) -0,118 V
(a2) -0,122 V
(b1) 0,771 V
(b2) 0,751 V
- 22-4.** (a1) 0,145 V
(a2) 0,143 V
(b1) 0,145 V
(b2) 0,125 V
- 22-5.** (a) -0,050 V
(b) -0,130 V
(c) 0,729 V
(d) 0,143 V
- 22-6.** (a) 1,25 V
(b) 0,299 V
- 22-7.** (a) 0,288 V, galvánica
(b) -0,599 V, electrolítica
(c) -0,836 V, electrolítica
- 22-8.** (a) -0,357 V, electrolítica
(b) 1,227 V, galvánica
(c) 0,589 V, galvánica
- 22-9.** -0,90 V
- 22-10.** -0,367 V
- 22-11.** -0.037 V
- 22-12.** -1,92 V
- 22-13.** $1,8 \times 10^{-4}$
- 22-14.** $1,0 \times 10^{-15}$
- 22-15.** 0,122 V
- 22-16.** -0,298 V
- 22-17.** 0,357 V

Capítulo 23

- 23-8. (a) 0,517 V
 (b) -0,925
 (c) -0,598
 (d) 0,493

- 23-9. (a) 0,031 V
 (b) ECS||CuBr(sat), Br⁻ (xM)|Cu
 (c) $pBr = \frac{E_{pila} - E_{CuBr}^0 + E_{ECS}}{0,0592}$
 (d) 2,40

- 23-10. (a) 0,366 V
 (b) ECS||Ag₃AsO₄(sat), AsO₄³⁻ (xM)|Ag
 (c) $pAsO_4 = \frac{(E_{pila} - E_{Ag_3AsO_4}^0 + E_{ECS})3}{0,0592} = \frac{(E_{pila} - 0,122)3}{0,0592}$
 (d) 9,62

23-11. 6,76

23-12. 6,96

23-13. 0,604 V

23-14. $6,6 \times 10^{18}$

- 23-15. (a) 0,113 V
 (b) 0,054 V
 (c) -0,005 V

23-16. 10,22

23-17. $1,0 \times 10^{-16}$

23-18. $3,97 \times 10^{-5}$

23-19.	Vol Ce ⁴⁺	E vs. ECS	Vol Ce ⁴⁺	E vs ECS
	10,00	0,68 V	50,10	1,04 V
	25,00	0,70	51,00	1,10
	40,00	0,71	55,00	1,14
	49,00	0,75	60,00	1,16
	49,90	0,78		

- 23-20. (a) 8,69 y $2,05 \times 10^{-9}$
 (b) $1,97 \times 10^{-9}$ y $2,13 \times 10^{-9}$
 (c) $\pm 3,9 \%$
- 23-21. (a) 5,226
 (b) $5,004 \times 10^{-6}$ y $6,831 \times 10^{-6}$
 (c) $-15,9 \%$ y $-14,8 \%$
- 23-22. $4,28 \times 10^{-4} \%$

Capítulo 24

- 24-1. (a) $-1,346 \text{ V}$
 (b) $0,285 \text{ V}$
 (c) $-1,630 \text{ V}$
 (d) $-1,692 \text{ V}$
- 24-2. (a) $0,077 \text{ V}$
 (b) $0,097 \text{ V}$
 (c) $0,223 \text{ V}$
 (d) $0,216 \text{ V}$
 (e) $0,0582 \text{ V}$
- 24-3. (a) Ag^+ puede separarse tanto de Cu^{2+} como de BiO^+ .
 (b) Para separar Ag^+ mantener el potencial de la pila entre $0,495 \text{ V}$ y $0,200 \text{ V}$.
 (c) Para precipitar cuantitativamente el Bi, el potencial de la pila debe ser $-0,540 \text{ V}$.
- 24-4. (a) AgI se forma primero a un potencial de la pila de $0,300 \text{ V}$. La pila es galvánica.
 (b) La separación es factible si el potencial de la pila se mantiene entre $0,099 \text{ V}$ y $0,076 \text{ V}$.
 (c) La separación es factible si el potencial de la pila se mantiene entre $0,099 \text{ V}$ y $-0,073 \text{ V}$.
 (d) La separación del Br^- del Cl^- no es factible.
- 24-5. (a) $0,432 \text{ V}$
 (b) $0,247 \text{ V}$
 (c) $-0,127 \text{ V}$
- 24-6. (a) 2,951 min
 (b) 1,967 min
 (c) 0,984 min
- 24-7. 2,471 % CCl_4 y 1,854 % CHCl_3
- 24-8. 0,613 % As_2O_3
- 24-9. $9,60 \times 10^2 \text{ g/equivalente}$
- 24-10. 33,7 $\mu\text{g C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$

Capítulo 25

- 25-6. (a) $-0,059 \text{ V vs. ECS}$
 (b) $+0,059 \text{ V vs. ECS}$
- 25-8. (a) $-0,067 \%$
 (b) $-0,13 \%$
 (c) $-0,40 \%$
- 25-9. (a) $0,369$
 (b) $0,346$
 (c) $0,144$
 (d) $0,314 \text{ mg Cd/mL}$
- 25-10. Para PbA_2 , $K_f = 7,0 \times 10^5$
- 25-12. (a) $-0,260 \text{ V}$
 (b) $-0,408 \text{ V}$
 (c) $-0,615 \text{ V}$

Capítulo 26

- 26-12. (a) $N_A = 2.775$ $N_B = 2.472$ $N_C = 2.364$ $N_D = 2.523$
 (b) $\bar{N} = 2,5 \times 10^3$ $s = 0,2 \times 10^3$
 (c) $H = 0,0097 \text{ cm}$
- 26-13. (a) $k'_A = 0,74$ $k'_B = 3,3$ $k'_C = 3,5$ $k'_D = 6,0$
 (b) $K_A = 6,2$ $K_B = 27$ $K_C = 30$ $K_D = 50$
- 26-14. (a) $Rs = 0,72$
 (b) $\alpha_{C,B} = 1,08$
 (c) $L = 108 \text{ cm}$
 (d) $t_R = 62 \text{ min}$
- 26-15. (a) $Rs = 5,2$
 (b) $L = 2,1 \text{ cm}$
- 26-16. (a) $\bar{N} = 2,7 \times 10^3$
 (b) $s = 0,1 \times 10^3$
 (c) $H = 0,015 \text{ cm}$
- 26-17. (a) $R_s = 1,1$
 (b) $R_s = 2,7$
 (c) $R_s = 3,7$
- 26-18. (a) $N = 4,7 \times 10^3 \text{ platos}$
 (b) $L = 69 \text{ cm}$
 (c) $t_R = 19 \text{ min}$

- 26-19. (a) $k'_1 = 4,3$; $k'_2 = 4,7$; $k'_3 = 6,1$
 (b) $K_1 = 14$; $K_2 = 15$; $K_3 = 19$
 (c) $\alpha_{2,1} = 1,11$
 (d) $\alpha_{3,2} = 1,28$
- 26-22. (a) $k'_M = 2,54$; $k'_N = 2,62$
 (b) $\alpha = 1,03$
 (c) $N = 8,1 \times 10^4$ platos
 (d) $L = 1,8 \times 10^2$ cm
 (e) $t_R = 91$ min
- 26-23. (a) $k'_M = 2,45$; $k'_N = 2,62$
 (b) $\alpha = 1,07$
 (c) $N = 1,6 \times 10^4$ platos
 (d) $L = 35$ cm
 (e) $t_R = 18$ min
- 26-24. % acetato de metilo = 14,8
 % propionato de metilo = 8,1
 % *n*-butirato de metilo = 37,1
- 26-25. % 1 = 15,0; % 2 = 18,1; % 3 = 27,4; % 4 = 23; % 5 = 16,5

Capítulo 27

- 27-20. 558
- 27-21. (a) 30,2 mL/min
 (b) 8,4 mL; 55,3 mL; 116,2 mL; 221,5 mL
 (c) 24,4 mL; 56,1 mL; 111 mL
 (d) $K_1 = 34,2$; $K_2 = 78,6$; $K_3 = 156$
 (e) $t_R = 36,0$ min; $V_R^0 = 1,01 \times 10^3$ mL
- 27-22. (a) $k'_1 = 5,6$; $k'_2 = 13$; $k'_3 = 25$
 (b) $\alpha_{2,1} = 2,3$; $\alpha_{3,2} = 2,0$
 (c) $\bar{N} = 1,7 \times 10^3$ platos; $H = 0,064$ cm
 (d) $(R_S)_{2,1} = 7,5$; $(R_S)_{3,2} = 6,4$
- 27-24. $t_R = 8,00$ y 18,2 minutos
- 27-26. (a) 300
 (b) 400
 (c) 500
 (d) 600
 (e) 700
 (f) 800
 (g) 726
 (h) 431
 (i) 629

- (j) 616
(k) 585
(l) 642

Capítulo 28

- 28-13. (a) $k'_1 = 26,7$
(b) 71 % CHCl_3 y 29 % *n*-hexano
- 28-18. (a) *n*-hexano, benceno, hexanol
(b) dietil éter, acetato de etilo, nitrometano
- 28-19. (a) hexanol, benceno, *n*-hexano
(b) nitrometano, acetato de etilo, éter de dietiléter
- 28-20. $K_B = 0,38$; $K_C = 0,73$

Apéndice 1

a1-1.		A	B	C	D
(a)	$\bar{x}$	61,43	3,25	12,10	2,65
	df	3	6	2	4
(b)	s	0,11	0,020	0,057	0,21
	df	2	5	1	3
(c)	s_m	0,064	0,0082	0,040	0,10
(d)	CV	0,18 %	0,60 %	0,47 %	7,9 %

a1-2.		A	B	C	D
	E_a	-0,28 %	-0,030	-0,13	-0,10
	% error relativo	-0,45 %	-0,91 %	-1,1 %	-3,6 %

- a1-3. (a) -2,0 %
(b) -0,5 %
(c) -0,2 %
(d) -0,1 %

- a1-4. (a) 10g
(b) 2,1 g
(c) 1,3 g
(d) 0,87 g

a1-5. $N = 1 \times 10^4$

a1-6. $13,5 = 14$

a1-7. -25 ppt

a1-8. (a) $0,10; 0,099; 0,11; 0,13; 0,10 \text{ mg Ca/100 mL}$

(b) $0,11 \text{ mg Ca/100 mL}$

a1-9. $s = 0,15; 0,14; 0,17; 0,18 \text{ } \mu\text{g Pb/m}^3$

$s_{\text{ponderada}} = 0,16 \text{ } \mu\text{g Pb/m}^3$

a1-10.	s_Y	CV	γ
(a)	0,03	5,2 %	0,57 ($\pm 0,03$)
(b)	$0,14 \times 10^{-16}$	2,0 %	$6,9 (\pm 0,1) \times 10^{-16}$
(c)	$1,4 \times 10^3$	0,77 %	$1,84 (\pm 0,01) \times 10^5$
(d)	$5,07 \times 10^{-3}$	8,5 %	$6,0 (\pm 0,5) \times 10^{-2}$
(e)	$1,08 \times 10^{-4}$	1,3 %	$8,1 (\pm 0,1) \times 10^{-3}$

a1-11.	s_Y	CV	γ
(a)	$0,03 \times 10^{-7}$	2,0 %	$-1,37 (\pm 0,03) \times 10^{-7}$
(b)	0,10	13 %	0,8 ($\pm 0,1$)
(c)	1,8	50 %	4 (± 2)
(d)	100	0,27 %	$3,70 (\pm 0,01) \times 10^4$
(e)	3,2	3 %	106 (± 3)

a1-12. (a) $\bar{x} \pm 0,064 \text{ ppb}$

(b) $\bar{x} \pm 0,037 \text{ ppb}$

(c) $\bar{x} \pm 0,029 \text{ ppb}$

a1-13. (a) $\bar{x} \pm 0,029 \text{ ppm}$

(b) 12 medidas

a1-14. (a) $\bar{x} \pm 0,76 \text{ ppm}$

(b) 7 medidas

a1-15. Se aprecia un sesgo

a1-16. (a) Se aprecia un error determinado

(b) No se demuestra la existencia de un error determinado

a1-17. (a) Para el C, no se indica un error determinado

(b) Para el H, se aprecia un error determinado

a1-18. $V = 5,20 \text{ cm}^3$ $s_V = 0,15 \text{ cm}^3$

a1-19. A pH = 2,0, s para la de $[\text{H}_3\text{O}^+] = 2,3 \times 10^{-4}$
 A pH = 12,0, s para la de $[\text{H}_3\text{O}^+] = 2,3 \times 10^{-14}$

a1-20. $s = 7,5 \times 10^{-5} \text{ g/mL}$

a1-21. (a) $2,943 (\pm 0,002)$
 (b) $-0,3048 (\pm 0,0004)$
 (c) $4,4 (\pm 0,1) \times 10^3$
 (d) $6,44 (\pm 0,03) \times 10^{-8}$

a1-22. (b) $R = 0,232c_x + 0,162$
 (d) $s_m = 0,0174$; $s_b = 0,21$
 (e) $15,1 \text{ mg SO}_4^{2-}/\text{L}$; $s_c = 1,4 \text{ mg SO}_4^{2-}/\text{L}$; $\text{CV} = 9,3 \%$
 (f) $s_c = 0,81 \text{ mg SO}_4^{2-}/\text{L}$; $\text{CV} = 5,4 \%$

a1-23. (b) $E = -29,7 \text{ pCa} + 92,9$
 (c) $s_m = 0,68$; $s_b = 2,24$
 (d) $\text{pCa} = 2,44$; $s_c = 0,080$; $(s_c)c = 3,3 \%$
 (e) para la media de 2, $s_c = 0,061$; $(s_c)c = 2,5 \%$
 para la media de 8, $s_c = 0,043$; $(s_c)c = 1,8 \%$
 (f) $[\text{Ca}^{2+}] = 3,6 \times 10^{-3}$
 (g) para la media de 2, $s = 5,1 \times 10^{-4}$; $(s_c)c = 14 \%$
 para la media de 8, $s = 3,6 \times 10^{-4}$; $(s_c)c = 9,9 \%$

a1-24. (a) $A = 5,57c_{\text{MVK}} + 0,902$
 (c) $s_m = 0,096$; $s_b = 0,33$

(d)	A	$c_{\text{MVK}}, \text{ mmol/L}$	N	$s_c c \text{ mmol/L}$	$(s_c)_c, \%$
	6,3	0,969	1	0,086	8,9
	6,3	0,969	4	0,058	6,0
	27,5	4,78	1	0,084	1,8
	27,5	4,78	4	0,056	1,2

Índice

Los números de página seguidos por la letra *t* indican que están contenidos en una tabla.

- 1,10-fenantrolina, complejación con, 344
- 1,4-Dioxano, como disolvente para la región del infrarrojo, 437, 453
- para las regiones ultravioleta/visible, 367
- 2-(o-hidroxifenil) benzoxazol, como reactivo fluorimétrico, 400*t*
- 8-hidroxiquinolina
- como agente protector, espectroscopia atómica, 235
- como reactivo quelante, 235, 238, 706
- efecto hiper Raman, 478
- fluorescencia del, 399
- Aberación cromática, 132
- Ablación por arco, espectroscopia atómica, 227*t*
- Ablación por chispa
- espectrometría de masas, 278
- espectroscopia atómica, 213*t*, 215
- Ablación, métodos de, espectroscopia atómica, 213*t*, 215, 248, 279
- Abscisas, escalas de, en los espectros de RMN, 497
- Absorbancia, *A*, 147, 323*t*
- medida de, 148, 322, 369, 446
- efecto de la anchura de la rendija sobre, 333
- factores que afectan, 230, 325-328, 333, 368
- Absorción
- de radiación electromagnética, 132, 141-144, 151
- de rayos X, 296
- en láser, 158
- en un campo magnético, 144 (*véase también* Espectroscopia de resonancia magnética nuclear)
- transferencia de carga, 354, 363-364
- Absorción, análisis por, 147 (*véase también* Absorbancia, Espectroscopia de absorción, Espectrofotometría)
- cualitativo, 333, 364-366
- cuantitativo, 366-376
- curvas de calibrado para, 368 (*véase también* Ley de Beer)
- de mezclas, 325, 369
- disolventes para, 335 (*véase también* Disolventes)
- filtros para, 163-165, 342
- fuentes para, 153-163, 335
- incertidumbres en, 325-334
- instrumentación para, 250-257, 337-347
- limpieza de las cubetas para, 337, 368
- método de adición estándar, 368
- selección de longitud de onda para, 163
- Absorción atómica, 141
- Absorción de la radiación electromagnética, 141, 354 (*véase también* Absorción, análisis por, Espectroscopia de absorción atómica)
- por mezclas, 325, 369
- por núcleos atómicos 144 (*véase también* Resonancia magnética nuclear)
- por sólidos, 475
- procesos de relajación en, 138 (*véase también* Relajación)
- velocidad de, 384
- Absorción electrónica, 142
- Absorción molecular, 142, 147*t*, 211
- Absorción por transferencia de carga, 363
- electrones implicados en la, 354, 363-364
- Absorción vibracional, 144
- Absortividad, *a*, 147, 323*t* (*véase también* Absortividad molar)
- Absortividad molar, 146, 323*t*, 353
- efecto del índice de refracción en, 325
- Acelerador, como fuente de neutrones, análisis por activación, 887, 888
- Acetilacetona, como reactivo quelante, 238
- Acetona, como disolvente para las regiones ultravioleta/visible, 366
- Acetonitrilo, como disolvente, 453
- Ácido 1-pirrolidinacarboditióico, como agente protector, espectroscopia atómica, 235
- Ácido 2,2-dimetil-2-silapentano-5-sulfónico, sal sódica, como patrón interno, RMN, 497
- Acoplador en estrella, espectroscopia óptica, 190
- Acoplamiento de las vibraciones moleculares, 412, 418, 468
- Acoplamiento vibracional, 412, 418
- Actividad, *a*, 945
- efecto sobre los potenciales de electrodo, 608, 614, 620, 625, 654, 664
- Actividad, *A*, de los radionucleidos, 880
- Actividad, sustitución por concentración, ecuación de Nernst, 625
- Acumulador, del ordenador, 88
- Adición, 16, 285
- Administración de Salud y Seguridad Laboral (Occupational Safety and Health Administration) (OSHA), Límites de tolerancia de, 449*t*, 450
- Adsorción, interferencia por, GLC, 771
- Aerosol, 213, 214, 220, 222
- Agentes liberadores, espectroscopia de absorción atómica, 235
- Agentes protectores, espectroscopia de absorción atómica, 235

- Agua
 como disolvente, regiones UV/visible, 367*t*
 papel
 como moderador de neutrones, 885
 en el funcionamiento del electrodo de vidrio, 646
 polaridad del, 803
- Aire, como oxidante, espectroscopia atómica, 221*t*
- Ajuste de la compensación, amplificadores operacionales, 56
- Ajuste de la corriente oscura, espectroscopia de absorción, 148
- Ajuste del 100 por 100 de *T*, espectroscopia de absorción, 148, 329, 337, 340, 343
- Ajuste del cero por ciento de *T*, espectroscopia de absorción, 148, 329, 337
- Ajuste del cien por cien de *T*, 148, 329, 337
- Alcoholes, absorción de la radiación electromagnética por los, 358*t*, 444*t*
- Aldehídos, absorción de la radiación electromagnética por los, 358*t*, 444*t*
- Algoritmo, 88
- Altura de pico, determinación de la cromatografía en columna, 753
 espectrometría de masas, 572
 espectrometría de Rayos X, 311
- Altura de plato, *H*, 738, 739, 749, 752*t*
 electroforesis capilar, 845
 evaluación de, 739
 factores que afectan, 741-744
 tamaño de la muestra y, 788
 tamaño partícula del relleno y, 785, 787
- TLC, 827
- Alúmina, como fase estacionaria, HPLC, 793, 810
- Amoníaco
 como fluido supercrítico, 832*t*
 sonda sensible a gases para, 659*t*, 660
- Amortiguación colisional, 386
- Amortiguación de fluorescencia, 391, 398
- Amortiguadores de la radiación, 232
- Amortiguadores,
 de radiación, 232
- Amperostato, 67
- Amplificación
 con transistor de unión bipolar, 44
 de la luz, en láseres, 155, 158
 de las señales del transductor, 61-66
 química, 262
- Amplificación de la luz, en un láser, 155, 158
- Amplificación gaseosa, de la fotocorriente, 304
- Amplificación química, 262
- Amplificador
 de cierre, 110
 de corte, 109
 diferencial, 65 (*véase también* Amplificador diferencial)
 instrumental, 107
 operacional, 55-72, 421
- Amplificador de corte, para la reducción del ruido, 109, 110
- Amplificador de refuerzo no inversor, 67
- Amplificador diferencial, 65, 392
 para la reducción del ruido del transductor, 108
- Amplificador instrumental, 107
- Amplificador sincrónico, 110
- Amplificadores operacionales, 55-70
 características generales de, 56
 circuitos que incorporan, 58, 61
 (*véase también* tipos específicos)
 dependencia de la frecuencia de, 59
 símbolos para, 55
- Amplitud, *A*,
 de la radiación electromagnética, 122, 123, 126
 de las corrientes sinusoidales, 28
 de las vibraciones moleculares, 411
 de una onda, *E₀*, 466
- Análisis coulombimétrico, 673 (*véase también* Valoraciones coulombimétricas, Culombimetría potenciostática)
- Análisis de gases
 espectroscopia de electrones, 584
 espectroscopia en el infrarrojo, 429, 436, 448, 449*t*, 453
 quimioluminiscencia, 403
- Análisis de superficies, 577, 605
 por espectrometría de masas, 288
 por espectroscopia de electrones, 580-590
- Análisis/detección de un grupo funcional orgánico
 HPLC, 803
 IR, 447
 polarográfico, 720
 Raman, 475
 RMN, 515
 UV/visible, 367
- Análisis elemental
 automatizado, 912
 por espectrometría de masas, 288, 571
 por espectroscopia fotoelectrónica de rayos X, 584
 por RMN, 516
- Análisis en flujo continuo no segmentado, 899 (*véase también* Análisis por inyección en flujo)
- Análisis enzimático, automatizado, 912
- Análisis espectrofotométrico 147 (*véase también* Análisis por absorción)
 derivado, 370
 efecto del ruido instrumental en la precisión del, 329-333
 ultravioleta/visible, 366-376
- Análisis fotométrico, 147 (*véase también* Análisis por absorción)
- Análisis multielemental
 espectroscopia de emisión, 264
 ICPMS, 283
- Análisis orgánico
 automatizado, 912
 culombimétrico, 683
 fluorimétrico, 399
 quimioluminiscente, 404
- Análisis polarográfico
 cuantitativo, 718-720
 ondas del oxígeno en, 703
- Análisis por activación, 877 (*véase también* Análisis por activación neutrónica)
- Análisis por activación neutrónica, 878, 887-890
 exactitud del, 891
 métodos, 889
 sensibilidad del, 891
 teoría del, 888
- Análisis por activación no destructiva, 889, 890
- Análisis por inyección en flujo, FIA, 899-909
 detectores para, 704, 901
 dispersión en, 903
 instrumentación para, 900
 principios del, 902, 904
- Análisis por microsonda de iones, 590
- Análisis por redisolución adsorptiva, 723
- Análisis por redisolución anódica, 721
- Análisis por redisolución, voltamperometría, 721-723
- Análisis potenciométrico directo, 662-668
 convenio de signos para, 662
- Análisis químico
 clasificación de los métodos, 1
 métodos de selección, 11
 operaciones unitarias en, 898, 899*t*
- Análisis térmico diferencial, DTA, 864, 860-867
- Analito, 1
- Analito, concentración del (*c_M*, *c_S*), en la columna cromatográfica, 752*t*
- Analito, dilución del, en la columna cromatográfica, 732

- Analizador de alturas de impulsos
para partículas α , 885
para rayos X, 304, 308
- Analizador de barrido rápido centrífugo, 912
- Analizador de barrido rápido, 910-912
- Analizador de masas, 272, 274-277, 550, 553-558
- Analizador de microsonda, espectrometría de masas, 590, 910
- Analizador de película en fase sólida, 914, 917*t*
- Analizador electrostático, ESA, espectrómetro de masas, 278
- Analizador magnético, espectrómetro de masas, 278, 554, 778
- Analizador multielemental simultáneo, 251 (*véase también* Instrumentos multicanal)
- Analizador sin llama, espectroscopia atómica, 223-227
- Analizadores,
centrífugos de barrido rápido, 912
elemental automatizado, 913
ion secundario
espectrometría de masas, 540*t*, 590
para espectroscopia fotoelectrónica de rayos X, 596
microsonda, 417
para espectrómetro de masas, 553-562
para espectroscopia de electrones, 582, 583
- Analizadores de flujo continuo, 898
- Analizadores discretos, 570, 899-913
- Analizadores ópticos multicanal, 182
- Ancho de banda producto, amplificador operacional, 60
- Anchura de banda
de los amplificadores operacionales, 60, 105
de los filtros, 165
de los monocromadores, 174, 227
del láser, 155
instrumental, 105
- Anchura de banda efectiva, 163
de los filtros, 165
de los monocromadores, 174, 333
- Anchura de la rendija
efecto en las medidas de absorción, 174, 383
instrumentos de diodos en serie, 339
selección de, 176
- Anchura de línea atómica, 207
- Anchura de línea efectiva, $\lambda_{1/2}$, 208
- Anchura de pico (W_A , W_B), 750, 752*t*
- Anchura de suavizado, n , de los pares de datos, 116
- Anchura del impulso, de la señal analítica, 6
- Anchura natural de línea, espectros atómicos, 208
- Anfolito, 858
- Angstrom, como unidad, Å, 123
- Ángulo de fase, φ
de la radiación electromagnética, 126
de las corrientes sinusoidales, 30
- Ángulo de precesión, 486
- Aniones
absorción en el UV/visible por, 358
orden de evolución, cromatografía iónica, 815
- Anisotropía del desplazamiento químico, 499, 521
- Anisotropía magnética, y desplazamientos químicos, 499, 521
- Ánodo, de la celda electroquímica, 611, 613, 618, 640, 663
- Antilogaritmo
generación de, 70
propagación del error en, 936*t*
- Antimoniuro de indio, como detector piroeléctrico, 422, 427
- Antorcha, espectroscopia ICP, 246, 278, 279
- Antraceno, espectro de excitación del, 394
- Apantallamiento de los núcleos, espectroscopia de RMN, 499
- Apantallamiento diamagnético, espectroscopia de RMN, 498
- Apertura numérica, de las fibras ópticas, 189
- Aplicación de la muestra, cromatografía en capa fina, 825
- Aproximación sucesiva, ADC, 85, 86
- Área 37, RMI, 529
- Área de pico
cromatografía en columna, 753
espectrometría de masas, 571
termograma, en DTA, 870
- Argón,
como gas de purga, análisis termogravimétrico, 865
como gas portador, GLC, 761
- Aritmética, binaria, 78, 80
- Aspiración, 214
- Atenuador, 339, 392, 428
- Atomización, 203, 212, 213*t*, 219
en la fuente de ICP, 248
- Atomización de la muestra, espectroscopia atómica, 212-216
- Atomización en vapor frío, de mercurio, 226
- Atomización por llama, 213*t*, 219, 223
- Atomización por plasma de descarga luminiscente GD, 213*t*, 287
- Atomizadores,
para espectrometría de masas, 271, 278
para espectroscopia atómica, 222
- Aumento (M), SEM, 593
- Autoabsorción
de fluorescencia, 391
en la lámpara de cátodo hueco, 234
espectroscopia atómica, 259
- Autoabsorción en la fuente, lámpara de cátodo hueco, 234
- Autoamortiguación, de fluorescencia, 391
- Automatización
de análisis, 897
analizadores de flujo continuo, 899 (*véase también* Análisis por inyección en flujo)
basada en tiras reactivas multicapa, 914 (*véase también* Tiras multicapa)
ventajas y desventajas de, 898
de instrumentos, 97, 431
del muestreo, 909
en la manipulación de sólidos, 910
- Auxocromo, 358
- Azida, grupo, absorción de la radiación electromagnética por el, 358
- Azo, grupo, como cromóforo, 358*t*
- Azufre
abundancia isotópica de, 545*t*
análisis automatizado del, 912
termograma diferencial del, 870
- Balanza, para termogravimetría, 864
- Banda
cromatográfica, 731
óptica, 163
- Banda de absorción, 144 (*véase también* Espectros de bandas)
- Banda de conducción, 161
- Banda de ganancia unidad, 60
- Banda de valencia, 161
- Bandas de combinación, espectros de infrarrojo, 417, 454
- Bandas laterales, en los espectros de RMN, 510
- Barn, b, 888
- Barrido
en espectros de masas, 276
en espectros ópticos, 166
- Barrido de líneas, espectroscopia de electrones Auger, 589
- Barrido directo, voltamperometría cíclica, 708
- Barrido general, espectroscopia fotoelectrónica de rayos X, 584
- Barrido inverso, voltamperometría cíclica, 708

- Barrido óptico, espectroscopia de superficie, 580
- Baudio, 91*t*
- Becquerel, Bq, 880
- Beer, ley de, 148, 297, 322, 324, 368
aplicación en mezclas, 325
efecto de la radiación parásita en, 329, 334
limitaciones de, 325-328, 446
verificación de, análisis por absorción, 368
- Benceno
como disolvente, 366, 437, 454
efecto de los sustituyentes sobre la fluorescencia de, 389*t*
- Benzofina, como reactivo fluorimétrico, 400*t*
- Binnig, G., 587
- Bioluminiscencia, 402
- Biosensor, 658
- Bit, 8, 80, 88
- Blanco, del tubo de rayos X, 292
- Blindaje para la reducción del ruido, 107
- Bloch, F., 481
- Bloque de inyección, GLC, 762
- Bloqueo, de relleno de fases unidas químicamente, 801
- Bobina, del transformador, 46
- Bobina primaria, del transformador, 46
- Bobina Tesla, 246
- Bobinas de compensación, espectrómetro de RMN, 509
- Bobinas de transmisión/recepción, espectrómetro de RMN, 506, 510
- Bobinas del secundario, del transformador, 46
- Bolómetro, 187, 421
- Boltzmann, constante de, *k*, 485
- Boltzmann, ecuación, 210
- Bomba neumática, para HPLC, 791
- Bomba recíproca HPLC, 790
- Bombas de desplazamiento, para HPLC, 791
- Bombas peristálticas, analizador de flujo continuo, 900
- Bombeo, activación del láser, 155, 156
- Bombeo electroosmótico, 858
- Bombeo por flujo osmótico, 858
- Borrado, del registro del ordenador, 88
- Bragg, ley de, difracción de rayos X, 297
- Bremsstrahlung, 292 (*véase también* Radiación de frenado)
- Bromo
abundancia isotópica de, 545*t*
efecto sobre la fluorescencia, 387
valoraciones amperométricas con, 706
- Bromuro, electrodo de membrana sólida para, 654
- Bucle de muestreo, 762, 791, 901
- Bunsen, monocromador de, 168
- Bus de control, del ordenador, 91
- Bus de direcciones, del ordenador, 90
- Bus, ordenador, 90
- Byte, 88
- Cadmio ion, electrodo de membrana sólida para, 653*t*
- Cadmio, seleniuro, como fotoconductor, 186
- Cadmio, sulfuro, como fotoconductor, 186
- Caída *I/R*, en células electroquímicas, 627-629, 660
- Calcio ion, electrodo de membrana líquida para, 654, 655*t*
- Calentamiento por efecto Joule, electroforesis capilar, 846
- Calibrado, curvas de, 16
evaluación por mínimos cuadrados de, 937
para análisis cromatográfico, 754, 821
para cromatografía de exclusión por tamaño, 821
para espectroscopia óptica, 239, 249, 258, 368, 446
para ICPMS, 278
para medidas potenciométricas directas, 665
para voltamperometría, 718
- Calibrado, patrones de,
para análisis cromatográfico, 754
para análisis de absorción, 369
para análisis de rayos X, 313
para espectrometría de masas cuantitativa, 573
para espectroscopia de emisión, 264, 266
para ICPMS, 285
voltamperometría, 718
- Calibrado, sensibilidad de, como parámetro de calidad, 12*t*, 13
- Californio 252, como fuente de neutrones, 887
- Calomelanos, electrodos, 618 (*véase también* Electrodo de calomelanos saturado)
- Calorimetría de barrido diferencial de potencia compensada, 870
- Calorimetría de barrido diferencial, DSC, 864, 874
- Cámara de ionización, 303, 304
para la detección de partículas α , 885
- Cambios dipolares, y absorción en el infrarrojo, 411, 417
- Camino óptico, *b*, 147, 323*t*
cálculo, espectrometría de absorción en el infrarrojo, 437
- Caminos de flujo, en la columna cromatográfica, 741
- Campo eléctrico, *y*, de la radiación electromagnética, 126
- Campo magnético, *B* (antiguamente *H*), 484, 555
absorción en el, 144 (*véase también* Espectroscopia de resonancia magnética nuclear)
niveles de energía en, 483
- Canal
de dispositivo MOSFET, 45
selector de alturas de impulsos, 306
- Canal MOSFET, 45
- Cantidad de electricidad, *Q*, 32, 679
- Cañón de electrones, espectroscopia fotoelectrónica de rayos X, 587, 593
- Cañón de iones
para análisis de superficies, 579, 590, 591
para espectrometría de masas, 588
- Capa de difusión de Nernst, 699
- Capa de difusión, analizador de película en fase sólida, 914
- Capa medidora, analizador de película en fase sólida, 914
- Capa reactiva, de un analizador de película en fase sólida, 915
- Capacidad, factor de, *k'*, cromatográfico, 736 (*véase también* Factor de retención)
- Capacitancia, *C*, en circuitos eléctricos, 31
- Capilar, constante del, DME, 712
- Captura de electrones, 295, 879
- Captura de neutrones, 888
- Captura *K*, 295, 879
- Carbonato, ion, absorción por UV/visible, 358
- Carbono
abundancia isotópica de, 545*t*
análisis automatizado para, 912
- Carbono pirolítico, 223
- Catarómetro, 766
- Cationes, orden de elución, cromatografía iónica, 814
- Cátodo, de la celda electroquímica, 612, 618, 663
- Caudal, *F*, de la fase móvil, 752*t*, 762, 791
- Celda de detección, amperométrica, para HPLC, 798
- Celda del analizador de trampa de iones, espectrómetro de masas de FT, 560
- Celda del sensor, 431

- Celda electrolítica, 611 (*véase también* Celdas electroquímicas)
- Celda electroquímica, 607-613
conducción en una, 609
electrolítica, 611
galvánica, 611
polarización de la, 627-633
potencial de la, 615 (*véase también* Potencial de celda, Ecuación de Nernst)
potenciales de unión en la, 611
representación esquemática de la, 612
reversibilidad de la, 611
sin unión líquida, 611
transferencia de masa en la, 611 (*véase también* Transferencia de masa)
variación de energía libre, 615
- Celda galvánica, 611 (*véase también* Celdas electroquímicas)
- Celdas
analizador de trampa de iones, 560
chip de memoria, 88
culombimétrica, 680, 685
de datos, 920
electrolíticas, 612
electroquímica, 609 (*véase también* Celdas electroquímicas)
galvánicas, 612
idealmente polarizada y n polarizada, 631
para culombimetría potenciostática, 680
para medida de pH, 645
reversible, 612
- Célula de capa-barrera, 178
- Célula fotovoltáica, 178
- Centro Internacional para Datos de Difración, 316
- Cetonas, absorción de radiación electromagnética por las, 358*t*, 444*t*
- Chip de memoria, 91
- Chisporroteo, 216
en la lámpara de cátodo hueco, 228 (*véase también* Fuente de descarga luminiscente)
- Cianógeno, bandas del, espectroscopia de emisión, 264
- Cianuro de hidrógeno, sonda sensible a gases para el, 659*t*
- Cianuro, ion, electrodo de membrana sólida para, 653*t*
- Ciclohexano, como disolvente en región del infrarrojo, 437
regiones UV/visible, 367*t*
- Cierre de vacío, espectrómetro de masas, 553 (*véase también* Fototubo)
- Circuito basculante (flip-flop), 82, 83
- Circuito basculante (flip-flop) JK, 82
- Circuito común, amplificador operacional, 56
- Circuito en paralelo, 23, 24
- Circuito equivalente, 26
- Circuito integrado, 40
- Circuito inversor, 59
- Circuito seguidor de tensión, 60, 63, 421
- Circuitos
basculante (flip-flop), 82 (*véase también* Circuito flip-flop)
con amplificador operacional, 58 (*véase también* tipos específicos)
de conmutación, 70
de corriente alterna, ca, 28-39
de corriente continua, cc, 22-28
RC, 31-39
- Circuitos cc, 22-28
- Circuitos en serie, 22, 23
CC, 22, 23
RC, 31-39
- Circuitos RC, 31-34
como filtros, 37
constante de tiempo para, 33
desplazamientos de fase, 33, 34
efecto de las entradas pulsantes sobre los, 38
impedancia en, 35
respuesta de, a las señales sinusoidales, 34
- Círculo de Rowland, 252
- Cloro, abundancia isotópica del, 545*t*
- Cloroformo, como disolvente, espectrometría IR, 436
- Cloruro de dansilo, como reactivo fluorométrico, 797
- Cloruro de metileno, como disolvente, 454*t*
- Cloruro, electrodo de estado sólido para, 653*t*
- Coadición, de datos, 112
- Cobre(II), electrodo de membrana sólida para, 653*t*
- Codificación, de la información, 4, 79
- Codificador binario, 9
- Código máquina, 94
- Coefficiente de absorción lineal, μ , espectroscopia de rayos X, 297
- Coefficiente de absorción másico, μ_M , 297
- Coefficiente de actividad medio, $\pm$, 946
- Coefficiente de actividad, γ_X , 945, 947*t*
- Coefficiente de detección, c , 880
- Coefficiente de difusión
cromatográfico, D_M , D_S , 740*t*, 743, 788
electroforético, 845
electroquímico, D , 675
para fluidos supercríticos, 832*t*
- Coefficiente de dispersión, s , espectrometría de reflectancia, 451
- Coefficiente de distribución, K , 735 (*véase también* Coeficiente de reparto)
- Coefficiente de extinción molar, 323*t* (*véase también* Absortividad molar)
 k , espectrometría de reflectancia, 450
- Coefficiente de extinción, k , 323*t* (*véase también* Absortividad)
- Coefficiente de reparto, K , cromatográfico, 734, 735, 752*t*, 760, 773, 821 (*véase también* Coeficiente de distribución)
- Coefficiente de selectividad, como parámetro de calidad, 12*t*
- Coefficiente de selectividad, $K_{A,B}$, de los electrodos de membrana, 650
- Coefficiente de variación, CV, 12, 919, 925
como parámetro de calidad, 12*t*
- Coefficientes de ponderación, 116
- Coefficientes de transferencia de masa (C_s , C_M), cromatográficos, 743
- Coherencia, de la radiación electromagnética, 130, 155, 156
- Colección Sadler
de espectros de infrarrojo, 445
de espectros Raman, 475
de índices de retención, GLC, 777
- Colimador, 166
de rayos X, 301
- Colisiones ion-molécula, espectrometría de masas, 543
- Colorímetro, 192
- Columna
cromatográfica unida químicamente, 800
para cromatografía de exclusión por tamaño, 820
para GLC, 763, 770-775
para HPLC, 792-793, 803
- Columna abierta de pared porosa (PLOT), cromatografía gas-sólido, 781
- Columna abierta de pared recubierta (WCOT), GLC, 770, 771*t*
- Columna abierta recubierta con soporte (SCOT), GLC, 770, 771*t*
- Columna supresora, cromatografía iónica, 812, 815
- Columna tubular abierta
GLC, 764, 770
SFC, 834
- Columnas abiertas de sílice fundida (FSOT), GLC, 770, 771*t*
- Columnas analíticas, HPLC, 792
- Columnas capilares, GLC, 762, 763, 770

- Columnas macrocapilares, GLC, 771, 776
- Columnas rellenas
electrocromatografía, 860
para cromatografía capilar, 868
para cromatografía de exclusión por tamaño, 819, 820*r*
para cromatografía de reparto, 800
para cromatografía iónica, 815
para GLC, 763, 771, 771*r*
para HPLC, 788, 793
para SFC, 834
- Compactación, de muestras, 262 (*véase también* Peletización)
- Comparador de circuito, 70, 85
- Compilador, para el ordenador, 94
- Complejación, en electrodos de membrana, 644
- Complementario, de un registro de ordenador, 88
- Comportamiento nernstiano, 649, 663
- Compuestos aromáticos
absorción de la radiación electromagnética por los, 358, 360*r*, 444*r*
fluorescencia de, 387
- Compuestos azufrados, análisis por quimioluminiscencia de, 403
- Compuestos cristalinos, identificación de, por difracción de rayos X, 315
- Compuestos macrocíclicos, en membranas líquidas, 653, 654
- Compuestos perfluorados, para la calibración del espectrómetro de masas, 562
- Cómputo de datos digitales, 9
- Cómputo decimal, 82
- Concentración de reactivo, y polarización de concentración, 633
- Concentración límite
de cuantificación, LOQ, 12*r*
de linealidad, LOL, 12*r*
- Concentración micelar crítica, 860
- Concomitantes, de la muestra, 16
- Condensador, en circuitos eléctricos, 30
- Conducción
en el semiconductor, 40, 305
en las celdas electroquímicas, 609
en los electrodos de membrana, 648, 651
- Conducción eléctrica
en disoluciones de electrólitos, 609
en membranas, 647, 651
en sólidos, 609
- Conductancia, G , 25
medida de, 63
- Conducto de luz, 780
- Conexión a tierra, circuitos amplificadores, 56
- Configuración octaédrica, de complejos de elementos de transición, 361
- Configuración plano cuadrada, de los complejos de metales de transición, 362
- Configuración tetraédrica, de los complejos de metales de transición, 361
- Configuradores, en electrónica, 81
- Conjugación, efecto sobre los espectros de absorción, 357
- Conjunto fleje punta, AFM, 601
- Conmutación, con el amplificador operacional, 70
- Cono de apertura, fibras ópticas, 189
- Cono de muestreo, ICPMS, 279
- Constante de acoplamiento, J , 500, 503
- Constante de apantallamiento, σ , espectrometría de RMN, 496
- Constante de desintegración, 1, 880
- Constante de fuerza, k , 412
de enlaces químicos, 415
- Constante de tiempo, en circuitos RC, 33
- Contador binario, 81
- Contador de centelleo líquido, 895
- Contador de centelleo tipo pozo, 885
- Contador de coincidencia, 885
- Contador electrónico, 78, 308
- Contador proporcional
para partículas α , 885
para partículas β , 885
para rayos X, 303, 304
- Contadores, 302 (*véase también* Tubo Geiger)
de centelleo, 305 (*véase también* Detector de centelleo)
para el espectrómetro de rayos X, 302-306
- Contaminación cruzada, FIA, 898, 899
- Contaminación del aire, medida de, 448
- Contaminación, y análisis de superficies, 579
- Continuo, 138, 140, 211, 248, 292
- Contraion, cromatografía de reparto, 808
- Control de inicio, para el osciloscopio, 49
- Control selectivo de iones, espectrometría de masas, 572
- Convección
transporte de masa en la disolución por, 611, 633, 698
y forma de la banda, FIA, 903
- Convenio de Estocolmo, para los potenciales de electrodo, 619
- Convenio de signos de la IUPAC
para corrientes eléctricas, 631
para potenciales de electrodo, 619
- Convenios de signos
en los potenciales de semipila, 619
en potenciometría directa, 662
- Conversión entre dominios, 5
- Conversión externa, desactivación por, 386
- Conversión interna
nuclear, 880
relajación por, 385, 390, 398
- Convertidor analógico-digital; ADC, 26, 78, 85, 93, 183
- Convertidor digital a analógico, DAC, 84, 93, 600
- Convertidor, dominio de los datos, 3
- Convertidores de señal, 81
- Copa de Faraday, para el espectrómetro de masas, 273
- Corrección del fondo Zeeman, AAS, 232, 233
- Corrección del volumen, en las valoraciones fotométricas, 373
- Corriente anular, 499
- Corriente continua
circuitos y medidas, 22-28
en celdas electroquímicas, 609, 613
- Corriente de carga capacitiva, en el DME, 712
- Corriente de difusión, i_p , 675, 712
- Corriente de entrada, BJT, 43
- Corriente de pico, I_p , 29
- Corriente del colector, BJT, 43, 44
- Corriente faradaica, 610, 716
- Corriente, i , 32
alterna, 28-39
anular,
eficaz (raíz cuadrática media), i_{ms} , 30, 105
en el semiconductor, 40, 182, 305
por efecto túnel, STM, 598
sinusoidal, 28
voltamperométrica, 701
capacitiva, 558, 712
continua, 22-28
control de, con amplificador operacional, 66
de carga, 610 (*véase también* Corriente de carga)
de difusión, i_p , 712
de la base, BJT, 45
de realimentación, 58
del colector, BJT, 45
diamagnética, 498
en las celdas electroquímicas, 609, 627-634
faradaica, 670, 674
imagen, en el espectrómetro de resonancia iónica ciclotrónica, 558
límite, i_p , 697 (*véase también* Corriente límite)

- medida de, 26, 28, 39, 61
no faradaica, 610 (véase también Corriente no faradaica)
oscura, 146 (véase también Corriente oscura)
polarográfica, 710 (véase también Onda polarográfica)
residual, 711 (véase también Corriente residual)
Corriente imagen, espectrómetro de resonancia iónica ciclotrónica, 559
Corriente límite, i_l , 697, 701, 712
Corriente no faradaica, 610
polarográfica, 711, 714, 716
Corriente oscura, 146, 177, 180, 189, 331
Corriente por efecto túnel, STM, 597, 598
Corriente por la base, I_B , transistor de unión bipolar, 44
Corriente residual, en la onda polarográfica, 711, 714
Corrientes alternas
circuitos, 28-30
en celdas electroquímicas, 611
Corrientes de carga
en el DME, 712, 716
en las celdas electroquímicas, 610
en los ultramicroelectrodos, 724
Corrientes diamagnéticas locales, moleculares, 498
Corrientes oscuras térmicas, 180
Corrientes polarográficas, 710
Corrientes sinusoidales, 28
Corrientes voltamperométricas, 701
Corte de la señal, para la reducción del ruido, 109
Corte, de la fuente de radiación, espectroscopia óptica, 109, 230, 420, 428
Cosquilleo de espín, espectroscopia de RMN, 506
Cristal de cuarzo, microbalanza (QCM), 10
Cristales, difracción de rayos X por, 297, 302t
Cristalización
en electrodos de membrana, 644, 651
en polímeros, 869
Cromatografía, 731, 732t (véase también tipos específicos)
cualitativa, 751
cuantitativa, 751
detectores para, 704, 765-770, 794-800
ensanchamiento de banda en, 733 (véase también Ensanchamiento de zona)
interfase con espectrometría de masas, 778
optimización de la eficacia de la columna en, 744
problema general de la elución en, 750
teoría de las velocidades de, 738
Cromatografía bidimensional, 828 (véase también Cromatografía en capa fina)
Cromatografía capilar electrocinética micelar, MECC, 843, 858, 860
Cromatografía de adsorción, 732t (véase también Cromatografía líquido-sólido)
Cromatografía de elución, 731
teoría de la, 736, 738
Cromatografía de exclusión de iones, 819
Cromatografía de exclusión por tamaño, 732t, 785, 819-824
relleno de columna para, 819, 820t
Cromatografía de fase gaseosa unida químicamente, 732t
Cromatografía de fase líquida unida químicamente, 732t
Cromatografía de fase unida químicamente, 800
Cromatografía de fluidos supercríticos, SFC, 731, 732t, 831-837
comparación con otros métodos cromatográficos en columna, 834
Cromatografía de gases GC, 731, 732t (véase también Cromatografía gas-líquido, cromatografía gas-sólido)
Cromatografía de gases/espectrometría de masas, GC/MS, 568, 778-780
Cromatografía de gases/espectroscopia en el infrarrojo, GC/FTIR, 780
Cromatografía de líquidos, 731, 732t (véase también Cromatografía de líquidos de alta eficacia)
ensanchamiento de banda extracolumna en, 787
Cromatografía de líquidos de alta eficacia, HPLC, 786 (véase también tipos específicos)
columnas para, 787, 792-793
detectores para, 341, 793-800
eficacia de la columna en, 787
ensanchamiento de banda extracolumna en, 787
fases móviles para, 801, 804t
instrumentos para, 788-791
Cromatografía de líquidos/espectrometría de masas, LC/MS, 568, 799
Cromatografía de pares iónicos, 800, 808
Cromatografía de reparto, 732t, 785, 800-809
rellenos en, 801-803
selección de la columna para, 803
Cromatografía en capa fina, TLC, 811, 824-828
bidimensional, 824, 828
cualitativa, 827
cuantitativa, 828
Cromatografía en columna, 731 (véase también tipos específicos)
Cromatografía en fase inversa, 800, 808
Cromatografía en fase normal, 800
Cromatografía en gel, GC, 786, 821 (véase también Cromatografía de exclusión por tamaño)
Cromatografía en papel, 824
Cromatografía en plano, 731 (véase también Cromatografía en capa fina)
Cromatografía gas-líquido GLC, 732t
acoplamiento de
con espectrometría de masas, GC/MS, 568
con espectroscopia en el infrarrojo, GC-FTIR, 780
cualitativo, 776
cuantitativo, 777
detectores para, 765-770
efecto del caudal sobre la, 761-763
efectos de polaridad en, 773
fase estacionaria para, 770, 773
instrumentación para, 761-770
Cromatografía gas-sólido GSC, 732t, 759, 781
Cromatografía iónica con una sola columna, 817
Cromatografía iónica, IC, 732t, 785, 812-819
equilibrio en, 812
rellenos para, 813
Cromatografía lineal, 735
Cromatografía líquido-líquido, 732t, 789, 800
Cromatografía líquido-sólido, 732t, 785, 810-812
Cromatograma, 732
Cromóforos, 354
efecto de la conjugación en la absorción de, 357, 360t
región ultravioleta/visible, 354, 358t
Cruce entre sistemas, relajación por, 386, 388, 391, 398, 400
Cuantos, de la radiación electromagnética, 135
Cubeta
cuidado y manipulación de, 337, 368

- Cubeta de detección, fotómetro no dispersivo, 430
- Cubetas
- cuidado y manipulación de, 337, 368
 - para análisis de fluorescencia, 394
 - para detección de fotones, 178 (*véase también* Detector)
 - para espectrometría de absorción IR, 436
 - para espectroscopia óptica, 151
 - para espectroscopia Raman, 471
- Cubetas de cuarzo, para espectroscopia óptica, 176, 337
- Cubetas de sílice fundida, para espectroscopia óptica, 176, 337
- Culombimetría, 673-688
- amperostática, 673 (*véase también* Valoraciones culombimétricas)
 - análisis por redisolución, 721-725
 - potenciostática, 679 (*véase también* Culombimetría potenciostática)
- Culombimetría a intensidad constante, 673 (*véase también* Valoraciones culombimétricas)
- Culombimetría a intensidad variable, 683, 919
- Culombimetría a potencial constante, 673 (*véase también* Culombimetría potenciostática)
- Culombimetría amperostática, 679 (*véase también* Valoraciones culombimétricas)
- Culombimetría potenciostática, 680-684
- Culombio, C, 679
- Cuña
- de interferencia, 165
 - óptica, 339, 431
- Cuña de interferencia, 165 (*véase también* Cuña óptica)
- Cuña óptica, 339
- Curie (Ci), 880
- Curie, punto de, de materiales piroeléctricos, 188, 421
- Cursor, del potenciómetro, 24
- Curva analítica, 16
- sensibilidad analítica, γ , como parámetro de calidad, 12*r*, 13
- Curva de calibración en la placa, espectroscopia de emisión, 263
- Curva de descomposición térmica, 864 (*véase también* Termograma)
- Curva de trabajo, 16
- Curva intensidad/tensión para un diodo semiconductor, 42
- Curva normal de error, 921, 926
- Czerny-Turner, monocromador de red de, 166, 230
- Dalton, Da, 270
- Datos
- almacenamiento de, 99
 - evaluación de, 920
 - ponderación de, 928
- Datos digitales en paralelo, 9
- Debye-Hückel, ecuación, 947
- Debye-Scherrer, cámara de polvo cristalino, 315
- Decibelio, dB, 38, 60
- Deformación hacia el frente, del pico cromatográfico, 737
- Deformación hacia la cola, de los picos cromatográficos, 737, 772, 826
- Densidad de corriente, 634
- Densidad electrónica, de los orbitales *d*, 362
- Densidad óptica, 323*t* (*véase también* Absorbancia)
- Densidad, de fluidos supercríticos, 831, 832*t*
- Densitómetro, para TLC cuantitativa, 828
- Derivatización, cromatografía de reparto, 800, 808
- Derivatización en columna, CE, 850*r*
- detección en columna, electroforesis capilar, 849
- Derivatización post-columna, CE, 850*r*
- Desacoplamiento de banda ancha, RMN de carbono 13, 518
- Desacoplamiento de espín, en los espectros de RMN, 505, 506
- Desacoplamiento de impulsos de los espectros de RMN de ^{13}C , 518
- Desacoplamiento, de protón y de átomos de ^{13}C , 505, 506, 518
- Desacoplamiento del protón, 505, 507, 518
- Desacoplamiento dipolar, RMN de ^{13}C , 521
- Desacoplamiento heteronuclear, espectroscopia de RMN, 507, 518
- Desacoplamiento homonuclear, espectroscopia de RMN, 506
- Desacoplamiento sin resonancia, RMN de carbono-13, 520
- Desactivación, de estados excitados moleculares, 138 (*véase también* Relajación)
- Desarrollo de la placa, cromatografía en capa fina, 825
- Desdoblamiento de los orbitales *d*, 362
- Desdoblamiento espín-espín, en los espectros de RMN, 495, 497, 500
- Desestabilización, de los orbitales *d*, 361
- Desintegración alfa, 878
- Desintegración beta, 879
- Desintegración, radiactiva, 878 (*véase también* Radiactividad)
- Deslocalización, de electrones, 354-357
- Desmodulador sincrónico, en amplificadores de cierre, 112
- Desolvatación, en las llamas, 220
- Desplazamiento anti-Stokes, espectroscopia Raman, 464
- Desplazamiento batocrómico, en los espectros de absorción, 357, 358
- Desplazamiento hacia el azul, en los espectros de absorción, 356
- Desplazamiento hacia el rojo, en los espectros de absorción, 209, 357
- Desplazamiento hipsocrómico, de los espectros de absorción, 356
- Desplazamiento químico
- en espectroscopia fotoelectrónica de rayos X, 583-585
 - espectroscopia de RMN, 495, 498, 501*t*, 505
- Desplazamiento Stokes, 145, 382, 384
- en espectroscopia Raman, 464
- Desplazamientos por desapantallamiento, en los espectros de RMN, 499
- Desplazamientos Raman y frecuencias de picos IR, 445
- Despolarización, de un electrodo, 706
- Desventaja multiplex, 195, 257
- Desviación de la media, 924
- Desviación estándar, σ , 919
- como medida de
 - de la eficacia de la columna, 738 (*véase también* Eficacia de la columna)
 - de la transmitancia, σ_T , 329
 - del ruido de la señal, 104
 - de la media, 12*t*
 - de los resultados procesados, 936
 - del recuento de los datos, análisis radioquímico, 881-884
 - en la concentración, σ_C , espectrometría de absorción, 329
 - método de mínimos cuadrados, 937
- Desviación estándar absoluta, como parámetro de calidad, 12*r*, 12
- Desviación estándar de la muestra, *s*, 924
- Desviación estándar de la población, σ , 925
- Desviación estándar relativa, RSD, 104
- como parámetro de calidad, 12*r*
- Desviaciones instrumentales, de la ley de Beer, 325, 328
- Desviaciones químicas de la ley de Beer, 325

- Detección de electrones, SEM, 593
 Detección de la señal, FT/RMN, 511
 Detección fotográfica
 espectrometría de masas, 274, 278, 287, 554, 556
 espectroscopia de emisión, 192, 262, 264
 espectroscopia de rayos X, 302, 315
 espectroscopia óptica, 182
 Detección/identificación de grupos funcionales
 espectroscopia IR, 439-445
 espectroscopia Raman, 475
 espectroscopia RMN, 516
 UV/visible, 365
 Detección indirecta de absorbancia, 849
 Detección indirecta de fluorescencia, CE, 849
 Detección por electronebulización, electroforesis capilar, 785
 Detector, 10, 151
 de centelleo, 274, 305
 de fotones, 302
 electronebulización, 850
 fotográfico, 262, 315
 para análisis en flujo continuo, 902
 para cromatografía iónica, 812, 817
 para electroforesis capilar, 849-853
 para espectrometría en el infrarrojo, 177 (*véase también* Radiación en el infrarrojo)
 para espectroscopia de electrones, 582
 para espectroscopia de emisión, 253, 262
 para FIA, 902, 905
 para GLC, 765-770
 para HPLC, 342, 793-800
 para microscopia de barrido de electrones, 595
 para SFC, 834
 para un espectrómetro de masas, 272, 277, 553-558
 para un espectrómetro de RMN, 511-513
 Detector absorciométrico, electroforesis capilar, 848
 HPLC, 341, 794, 794r
 Detector amperométrico, CE, 850
 HPLC, 798
 Detector basado en una propiedad del soluto, HPLC, 794
 Detector cuántico, 177
 Detector coulombimétrico, para HPLC, 798
 Detector de absorbancia en el infrarrojo
 GLC, 770, 780
 HPLC, 794r, 796
 SFC, 834
 Detector de absorción atómica, FIA, 902
 Detector de absorción ultravioleta
 para HPLC, 342, 795
 para SFC, 834
 Detector de bobina única, en el espectrómetro de RMN, 510
 Detector de bovinas perpendiculares, espectrómetro de RMN, 510
 Detector de captura de electrones (ECD), GLC, 767, 768
 Detector de centelleo, 302
 para el espectrómetro de masas, 272
 para el microscopio electrónico de barrido, 595
 para la radiación, 302, 885, 887
 para rayos X, 305
 Detector de conductividad térmica modulado de filamento único, GLC, 766
 Detector de conductividad
 para cromatografía iónica, 812, 816
 para electroforesis capilar, 850
 para HPLC, 794r
 Detector de conductividad térmica, TCD
 para análisis elemental automatizado, 912
 para GLC, 766
 Detector de dispersión de la luz, HPLC, 794r, 797
 Detector de emisión atómica, AED
 FIA, 902, 908
 GLC, 768
 Detector de estado sólido, para el recuento de partículas α , 885
 Detector de fluorescencia
 cromatográfico, 382
 electroforesis capilar, 382, 849, 850
 para FIA, 902
 para HPLC, 794r, 796
 para SFC, 834, 836
 para TLC, 826
 para un analizador de película en fase sólida, 914
 Detector de fotoconductividad
 para espectroscopia en el infrarrojo, 420, 422, 457
 para espectroscopia óptica, 178, 186
 para espectroscopia Raman, 472
 para microscopia de barrido de electrones, 595
 para radiación X, 302, 305, 885
 Detector de fotodiodos en serie (PDA), 182
 Detector de fotoionización
 GLC, 770
 HPLC, 795
 Detector de fotones, 177-186
 multicanal, 181
 ruido en, 330r
 Detector de fotones de telururo de cadmio/mercurio, 422
 Detector de fotones en serie (PDA)(*véase* Detector de fotodiodos en serie), 182
 Detector de fotones multicanal
 para espectroscopia de electrones, 583
 para espectroscopia óptica, 181
 Detector de germanio intrínseco, para rayos X, 305
 Detector de índice de refracción
 para FIA, 902
 para HPLC, 794r, 797
 Detector de ionización de llama, FID
 GLC, 765
 SFC, 834, 836
 Detector de la corriente límite, 704
 Detector de lentes térmicas, CE, 850r
 Detector de luminiscencia del azufre, SLD, 769
 Detector de luz dispersada tras evaporación (ELSD), HPLC, 797
 Detector de masas, GC, 778
 Detector de plasma de acoplamiento inductivo, FIA, 905
 Detector de quimioluminiscencia del azufre, 767
 Detector de radiación, 177 (*véase también* Detector)
 Detector de resolución en el tiempo, espectroscopia óptica, 190
 Detector de trampa de iones, ITD, espectrómetro de masas, 778
 Detector dopado con litio, para rayos X, 305
 Detector electrométrico, CE, 850r
 Detector electroquímico
 para electroforesis capilar, 850
 para FIA, 902
 para HPLC, 794r, 798
 Detector espectrofotométrico, FIA, 902
 Detector espectrométrico, CE, 850r
 Detector fotoeléctrico
 para espectroscopia de emisión, 263
 para espectroscopia óptica, 177
 Detector fotométrico
 cromatografía iónica, 817
 FIA, 902, 903
 HPLC, 342
 Detector fotométrico de llama, FPD
 GLC, 769
 SFC, 834
 Detector fotomultiplicador insensible a la luz solar, 241
 Detector piroeléctrico, 187, 420, 421, 426

- Detector polarográfico, para HPLC, 798
- Detector potenciométrico, CE, 850*t*
- Detector radiométrico, para electroforesis capilar, 850*t*
- Detector Raman, CE, 850*t*
- Detector selectivo de elementos, HPLC, 794*t*
- Detector semiconductor, 182, 305, 595, 885 (*véase también* Detector de fotoconductividad)
- Detector sensible a masa, GLC, 766
- Detector termoiónico, TID para cromatografía SFC, 834 para GLC, 769
- Detector termovaporizador, HPLC, 800
- Detector voltamperométrico cromatográfico, 704
- FIA, 704, 905
- Detectores basados en la medida de una propiedad de la disolución, HPLC, 794
- Detectores de actividad óptica, HPLC, 794*t*
- Detectores de canales multiplicadores de electrones en serie
- espectrometría de masas, 273
- espectroscopia de electrones, 583
- Detectores de fotoluminiscencia, para cromatografía de líquidos, 382, 796
- Detectores de gas, 302-304, 885
- Detectores de rayos X, 126*t*, 297
- distribución de las alturas de impulsos de los, 306
- Detectores espectrométricos de masas cromatográfico, 572, 770, 778, 794*t*, 799, 834
- electroforesis capilar, 572, 850*t*, 851
- Detectores térmicos, para radiación en el infrarrojo, 177, 186-188, 420
- Determinación de estructuras por RMN de ^{13}C , 520
- Diagrama de Bode, 38, 59, 108
- Diagrama de desdoblamiento, Zeeman, 233
- Diagrama de niveles de energía, 138, 204-207, 294
- para moléculas fotoluminiscentes, 383
- Diagramas de difracción, interpretación de, 316
- Diálisis, con FIA, 902
- Diamagnetismo, 382
- Diámetro de la columna, efecto sobre el ensanchamiento de banda, 743
- Dieléctrico, 31, 163
- Dietilditiocarbamato, complejación con, 368
- Dietil éter, como disolvente, regiones ultravioleta/visible, 366
- Difenilditiocarbazona, como reactivo quelante, 239
- Difenilditiocarbazona, complejación con, 367
- Diferenciación, circuito para, 69
- Diferencias, propagación del error en, 936
- Difracción
- de la radiación electromagnética, 128, 167
- de rayos X, 297 (*véase también* Rayos X)
- Difusión
- en remolino, 741
- longitudinal, 741 (*véase también* Difusión longitudinal)
- transporte de masa en la disolución por, 612, 633, 698
- y FIA, 902, 903
- Difusión de gases, en FIA, 902, 903
- Difusión longitudinal cromatográfica, 741, 743
- FIA, 903
- Difusión radial, FIA, 903
- Digital, electrónica, 77-87
- Dígito más significativo, en numeración binaria, 81, 85
- Dígito menos significativo, numeración binaria, 81, 85
- Dilución isotópica
- ICPMS, 278, 286
- radioquímica, 877, 893-894
- Dimetilclorosilano, DMCS, para sililación de columnas en GC, 771
- Dimetilformamida, como disolvente, espectrometría de IR, 437
- Dimetilglioxima, complejación con, 367
- Dimetilsulfóxido, como disolvente, 454
- Dínodo, 180
- Diodo, 41
- Diodo de silicio, como transductor fotoeléctrico, 178, 181, 339, 797
- Diodo emisor de luz, LED, 51, 82, 161
- Diodo láser reflector de Bragg distribuido (DBR), 161
- Diodo semiconductor, 41
- curvas corriente/potencial del, 42
- Diodo Zener, 47, 50, 72
- Dióxido de azufre, sonda sensible a gases para, 659*t*
- Dióxido de carbono
- como fluido supercrítico, 832*t*, 834, 839
- sonda sensible a gases para, 657, 659*t*
- Dipolo inducido, en la dispersión de la radiación, 466
- Discontinuidades de absorción, 295, 311
- Discriminador de alturas de impulsos, 303
- Discriminador, espectrómetro de rayos X, 306
- Disociación, de moléculas excitadas, 387
- Disolución reguladora para el ajuste de la fuerza iónica total, TISAB, 665
- Disolventes
- clasificación de, para cromatografía de reparto, 803
- para cromatografía de adsorción, 810
- para cromatografía de reparto, 804*t*
- para espectroscopia de absorción en el infrarrojo, 436, 437*t*, 453
- para espectroscopia de rayos X, 313
- para espectroscopia de RMN, 512
- para las regiones ultravioleta/visible, 365
- para polarografía orgánica, 720
- Disolventes deuterados, para espectroscopia de RMN, 514
- Disolventes fuertes, cromatografía de reparto, 803, 804*t*
- Disolventes orgánicos, efecto en AAS, 239 (*véase también* Efectos de los disolventes)
- Dispersión
- D*, análisis por inyección en flujo, 903, 904
- de radiación electromagnética, 132
- de rayos X, $d\theta/d\lambda$, 302
- por los monocromadores, 165, 170
- Dispersión angular, $dr/d\lambda$, del monocromador, 167, 170
- Dispersión de la radiación electromagnética, 132, 134, 151, 322 (*véase también* Espectroscopia Raman)
- Dispersión elástica
- de la radiación electromagnética, 466
- de los electrones, 595
- de los neutrones, 887
- Dispersión grande, FIA, 904
- Dispersión inelástica, de electrones, 595
- Dispersión limitada, FIA, 886
- Dispersión lineal, *D*, del monocromador, 165, 170
- Dispersión media en FIA, 904, 905
- Dispersión normal, 132 (*véase también* Dispersión)
- Dispersión Raman estimulada, 478
- Dispersión Raman, 134
- mecanismo de, 466
- Dispersión Rayleigh, 134, 475
- mecanismo de, 464
- modelo ondulatorio de, 466

- Dispersión recíproca lineal, D^{-1} , 511
 Dispersión refractiva anómala, 132
 (véase también Dispersión)
 Dispersión transversal, red de escalera, 172
 Dispositivo de acoplamiento de carga
 CCD, espectroscopia óptica, 182, 184, 185, 254
 Dispositivo de inyección de carga
 CID, espectroscopia óptica, 182, 184, 253
 Dispositivo de transferencia de carga,
 CTD, espectroscopia óptica, 179, 182, 253, 264
 Dispositivos de lectura, 11, 48 (véase también tipos específicos)
 Distribución de alturas de impulsos, detector de rayos X, 306
 Distribución gaussiana
 de las alturas de impulsos, detectores de rayos X, 306
 de los errores aleatorios, 920
 de los picos cromatográficos, 734, 737, 820
 Disulfuro de carbono, como disolvente, espectrometría de IR, 437, 454
 Ditzona, como reactivo quelante, 239
 División
 circuito para, 68
 propagación del error en la, 936
 División, propagación del error en, 936r
 Divisor de haz
 espectrómetro de doble haz, 339
 espectrómetro de transformada de Fourier, 197, 425 (véase también Interferómetro de Michelson)
 período de la pulsación, P_p , 126, 195
 Divisor de intensidad, 25
 Divisor de la muestra, GLC, 762, 771
 Divisor de tensión, 24, 677
 DME, 691 (véase también Electrodo de gotas de mercurio)
 Doble capa, 610
 Doble capa eléctrica
 en electroforesis capilar, 846, 852
 en la superficie de un electrodo, 610
 Doble enlace
 constante de fuerza del, 415
 orbitales moleculares y, 355
 Dodecil sulfato de sodio, como reactivo, cromatografía capilar electrocinética micelar, 861
 Dominio analógico, 5, 6, 78
 Dominio no eléctrico, 4
 Dominios de los datos, 3, 5-9, 22, 78
 Dominios del tiempo, 5, 6, 78
 Dominios digitales, 5, 7, 78
 Dominios eléctricos, 4, 5
 Dopado, de cristales semiconductores, 40
 Dureza del agua, electrodo de membrana para, 655r
 Ecuación de Ilkovic, 712
 Ecuación de Nernst, 615, 620
 cálculo de potenciales de semipila con, 615, 623-624
 efecto de la sustitución de las actividades por concentraciones, 625
 Ecuación de un divisor de intensidad, 25
 EDTA
 como reactivo protector, 235
 como valorador, 373, 642, 706
 Efecto Bernoulli, 214
 Efecto Compton, 879, 885
 Efecto de intensificación, espectrometría de fluorescencia de rayos X, 313
 Efecto de la temperatura
 en el ruido térmico, 105
 en el sobrepotencial, 634
 en la cromatografía de fluidos supercríticos, 833
 en la cromatografía gas-líquido, 744, 763
 en la eficacia de la columna cromatográfica, 740r, 747, 750, 793
 en la fluorescencia, 387, 390
 en la fosforescencia, 387, 396
 en la señal de salida de la lámpara de filamento de wolframio, 335
 en los espectros atómicos, 210, 235
 en los espectros Raman, 466
 en los imanes permanentes, 509
 en los perfiles de la llama, 221
 en los potenciales de electrodo, 615, 618, 620
 Efecto de la viscosidad
 en la fluorescencia, 390
 en los coeficientes de difusión, columna cromatográfica, 740r, 747
 Efecto del átomo pesado, 387 (véase también Cruce entre sistemas)
 Efecto fotoeléctrico, 135, 879
 Efecto nuclear Overhauser, espectroscopia de RMN, 506, 519
 Efecto piezoeléctrico, 10, 84
 Efecto Zeeman, 208, 233
 Efectos de interferencia, radiación electromagnética, 126, 129, 297
 Efectos de la complejación
 sobre la onda polarográfica, 713
 sobre los potenciales de electrodo, 624
 Efectos de la concentración
 en la absorbancia, 322 (véase también Ley de Beer)
 en la intensidad de fluorescencia, 364
 en las celdas electroquímicas, 620 (véase también Ecuación de Nernst)
 en los métodos potenciométricos directos, 664
 Efectos de la matriz
 en espectrometría de fluorescencia de rayos X, 313
 en espectroscopia atómica, 223, 230, 265
 en espectroscopia de absorción, 369
 en espectroscopia de emisión en plasma, 261, 283
 Efectos de la polaridad
 cromatografía de reparto, 801, 802
 espectroscopia de absorción, 356
 GLC, 773
 Efectos de la presión, SFC, 833
 Efectos de la volatilidad, AAS, 234
 Efectos del disolvente
 en absorción molecular, 357, 359, 365
 en espectroscopia atómica, 132, 239
 en fluorescencia, 390
 en la resolución, columna cromatográfica, 748, 791, 811
 en RMN de ^{19}F , 523
 sobre el factor de retención, 749
 sobre el factor de selectividad, 749
 Efectos del entorno, RMN de alta resolución, 494
 Efectos del pH
 en la cromatografía de reparto, 803
 en la fluorescencia, 390
 en la polarografía orgánica, 719
 sobre la selectividad cromatográfica, 750
 Efectos ópticos lineales, 162
 Eficacia de la columna, cromatográfica, 736, 737, 740r, 746, 787-788
 optimización de, 744, 746
 Eficacia de la corriente, 680, 684
 Efusión, en una sonda sensora de gases, 657
 Einstein, A., 135
 Electricidad
 cantidad de, Q , 32
 leyes de, 22
 Electrochromatografía capilar, CEC, 843, 858
 Electrochromatografía, EC, 824
 Electrochromatograma, 859
 Electrodo, 609
 auxiliar, 677 (véase también Electrodo auxiliar)

- Electrodo (*cont.*)
 biocatalítico, 658
 colector, espectrometría de masas, 273
 de calomelanos, 640 (*véase también* Electrodo de calomelanos saturado)
 de estado sólido, 651, 653*t*
 de fluoruros, 651, 653*t*
 de gota colgante, 696, 721
 de gotas de mercurio, 691 (*véase también* Electrodo de gotas de mercurio)
 de hidrógeno, 727
 de membrana cristalina, 651
 de membrana líquida, 645*t* (*véase también* Electroodos indicadores de membrana)
 de membrana sensible a gases, 656, 659*t*
 de membrana, 642, 651, 655*t*, 658
 de mercurio
 para análisis polarográfico, 691 (*véase también* Electrodo de gotas de mercurio)
 para coulombimetría potenciostática, 680, 683
 de referencia, 617 (*véase también* Electrodo de referencia)
 de segunda clase, 643
 de tercera clase, 642, 643
 de trabajo, 639
 de vidrio, 645*t* (*véase también* Electrodo de vidrio)
 enzimático, 659
 generador, coulombimétrico, 684
 indicador metálico, 642, 643
 indicador, 639 (*véase también* tipos específicos)
 inerte, 644
 microscópico, 694, 722
 normal de hidrógeno, 617
 para celdas electroquímicas, 609 (*véase también* Celdas electroquímicas)
 plata/cloruro de plata, 618 (*véase también* Electrodo de plata/cloruro de plata)
 polarización del, 627
 primera clase, 642
 redox, 642
 rotatorio, voltamperométrico, 706
 selectivo de iones, 639 (*véase también* tipos específicos)
 ultramicro, 694, 724
- Electrodo auxiliar, 680, 798
 coulombimetría potenciostática, 680
 electrólisis potenciostática, 678
 voltamperometría de barrido lineal, 694
- Electrodo colector, espectrómetro de masas, 553
 Electrodo de anillo-disco, 707
 Electrodo de calomelanos saturado, ECS, 618, 640, 692
 Electrodo de calomelanos tipo funda, 641
 Electrodo de disco, voltamperometría, 706
 Electrodo de doble unión, 666
 Electrodo de fluoruro, 651, 653*t*
 Electrodo de gota colgante de mercurio, HMDE, 696, 722
 Electrodo de gotas de mercurio, DME, 691, 696, 709, 712
 corrientes de difusión en el, 712
 variaciones de la corriente en el, 710
 ventajas y desventajas del, 712, 713
 Electrodo de hidrógeno, 617
 Electrodo de membrana biocatalítica, 658
 Electrodo de membrana líquida inmovilizada, 645*t*, 658
 Electrodo de membrana líquida, 652-654
 Electrodo de membrana policristalina, 752*t*
 Electrodo de mercurio
 como detector, HPLC, 799
 coulombimétrico, 680, 683, 686
 de gota colgante, 722 (*véase también* Electrodo de gota colgante)
 polarográfico, 694 (*véase también* Electrodo de gotas de mercurio)
 Electrodo de película de mercurio, análisis por redisolución, 723
 Electrodo de plata/cloruro de plata, 618, 641, 642, 916
 Electrodo de referencia, 617, 618, 798
 para coulombimetría potenciostática, 677, 681
 para potenciometría, 639-642
 precauciones en el uso del, 641
 para voltamperometría de barrido lineal, 692
 Electrodo de trabajo, 639, 677, 679, 680, 681, 692, 798
 Electrodo de vidrio, 645-651, 665
 coeficiente de selectividad del, 650
 en sondas sensibles a gases, 657
 error ácido, 651
 error alcalino, 650
 higroscopicidad de la membrana, 646, 666
 medidas de pH con el, 645, 665
 para cationes monovalentes, 651
 potencial de asimetría, 648, 663
 potencial del, 649
- Electrodo enzimático, 658
 Electrodo estandar de hidrógeno, SHE, 617 (*véase también* Electrodo normal de hidrógeno, ENH)
 Electrodo generador, coulombimetría, 684
 Electrodo indicador, 639 (*véase también* tipos específicos)
 Electrodo inerte, 643
 Electrodo normal de hidrógeno, ENH, 617 (*véase también* Electrodo estándar de hidrógeno, SHE)
 Electrodo plano, relaciones corriente/concentración para, 698
 Electroodos de estado sólido, 652, 653*t*
 Electroodos de membrana cristalina, 645*t*, 651
 Electroodos de membrana de haluro de plata, 652
 Electroodos de membrana monocristalina, 645*t*, 651
 Electroodos de membrana no cristalina, 645*t*
 Electroodos de membrana selectivos de iones, 639, 644
 Electroodos de pIon, 644 (*véase también* Electroodos indicadores de membrana)
 Electroodos indicadores de membrana, 642, 644-654, 916
 clasificación de, 644
 potencial de, 648
 Electroodos indicadores metálicos, 643, 644
 Electroodos indicadores redox, 642, 643
 Electroodos microscópicos, voltamperométricos, 694, 724
 Electroodos rotatorios, voltamperométricos, 707, 708
 Electroforegrama, 848, 858
 Electroforesis, 844
 Electroforesis capilar, CE, 843, 844-858
 Electroforesis capilar de zona, CZE, 852, 853
 Electroforesis capilar en gel, CGE, 852, 854
 Electroforesis capilar/espectrometría de masas, CE/MS, 569, 852
 Electroforesis convencional, 844
 Electrogravimetría, 673
 Electroimán, para un espectrómetro de RMN, 508
- Electrólisis
 análisis por redisolución, 721-723
 con corriente constante, 673, 676
 con potencial aplicado constante, 673, 674-675
 con potencial del electrodo de trabajo constante, 673, 677-678

- voltamperométrica, 691 (*véase también* Voltamperometría)
- Electrólisis a intensidad constante, 676
- Electrólisis a potencial controlado, 678
- Electrólisis potencioestática, 678
- Electrólito soporte, voltamperometría de barrido lineal, 692, 698, 719
- Electrómetro, 63
- Electrón
 - Auger, 314 (*véase también* Espectroscopia Auger)
 - conversión interna, 879 (*véase también* Conversión interna)
 - retrodisperso, 593
- Electrón de conversión interna, 880
- Electrones *d*, absorción por, 354, 359
- Electrones enlazantes, 354
- Electrones *f* absorción por los, 354, 359
- Electrones no enlazantes (*n*), 354, 355
- Electrones π (π), 354
- Electrones secundarios, 578, 595, 596
- Electrones sigma (σ), 354
- Electrónicas digitales, 77-87
- Electronvoltio, 137
- Elemento dispersor transversal de Schmidt, 256
- Elementos de resolución, del espectro multiplex, 193
- Elución, 731, 789, 828
- Elución con gradiente, cromatografía en columna, 750, 789
- Elución isocrática, 789
- Eluyente, cromatografía en columna, 731
- Emisión Auger, 314, 584
- Emisión de campo, de los electrones, 588
- Emisión de la radiación electromagnética, 138-141, 151
 - velocidad de, 384
- Emisión espontánea, del láser, 156
- Emisión estimulada, en láser, 155, 156
- Emisión rápida de rayos γ , 888
- Emisor de Nernst, 419
- Energía de enlace, electrónica, E_p , 581, 583
- Energía del espacio entre bandas, E_g , 161
- Energía del orbital, de los electrones *d*, 361
- Energía potencial
 - del oscilador armónico, 413
 - nuclear, 484
- Energía vibracional, molecular, 138, 144
- Enfoque de energía, espectrómetro de masas, 557
- Enfoque direccional, espectrómetro de masas, 271, 556
- Enlace oxígeno-hidrógeno, absorción por el, 444*t*
- Enlace sencillo, constante de fuerza del, 412, 415
- Enlace triple, constante de fuerza del, 415
- Ensanchamiento de banda extra-columna, cromatografía de líquidos, 787, 794
 - efecto (H_{cc}) sobre la altura del plato, 788
- Ensanchamiento de banda, 733 (*véase también* Ensanchamiento de zona)
- Ensanchamiento de línea, 207-210
 - de los espectros de RMN, 487, 505, 521
- Ensanchamiento de pico, cromatográfico, 733 (*véase también* Ensanchamiento de banda)
- Ensanchamiento de zona
 - cromatográfico, 732
 - electroforesis capilar, 845
 - extracolumna, HPLC, 787, 794
 - factores que afectan, 740
 - FIA, 903
 - SFC, 834
 - y eficacia de la columna, 736-744
- Ensanchamiento Doppler, 209, 211, 228, 229
- Ensanchamiento por presión, 210
- Enteros de convolución, 116
- Enteros de normalización, 116
- Entrada por sonda directa, espectrómetro de masas, 553
- Equilibrios
 - de intercambio iónico, 812
 - en llamas, 234-237
- Equilibrios competitivos, efecto sobre los potenciales de electrodo, 625-626
- Equilibrios de asociación, en llamas, 235
- Equilibrios de disociación, en llamas, 234, 235
- Erosión por bombardeo, en el perfil de profundidad, análisis de superficies, 579
- Error, 920
 - de carga, 26
 - propagación del, 936
- Error absoluto, E_a , 920
- Error ácido, electrodo de vidrio, 651, 666
- Error alcalino, electrodo de vidrio, 650, 666
- Error aleatorio, 920, 921
 - tratamiento estadístico de, 923
- Error craso, 920
- Error de carga en las medidas eléctricas, 26, 27
- Error determinado, 920
- Error estándar, de la media, S_m , 923
- Error indeterminado, 920, 933
- Error relativo, 920
- Error sistemático absoluto, como parámetro de calidad, 12*t*
- Error sistemático relativo, como parámetro de calidad, 12*t*
- Error sistemático, 920, 922*t*
 - t*, valores de, 932
- Errores de método, 922, 923
- Errores instrumentales, 922
- Errores personales, 922
- ESCA, 579*t* (*véase también* Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X)
- Escalador, 84
 - para el espectrómetro de rayos X, 308
- Especies anfóteras, 856-858
- Especies inorgánicas
 - absorción de radiación electromagnética por, 359, 368
 - análisis polarográfico de, 719
 - análisis por quimioluminiscencia de, 404
 - determinación fluorimétrica de, 399
 - espectros Raman de, 474
- Especies no absorbentes, determinación fotométrica de, 359, 367
- Espectro
 - continuo, 144
 - de absorción, 141 (*véase también* Absorción, espectro de)
 - de arco, 264
 - de masas, 280, 542, 545
 - de RMN, 493
 - derivado, 370
 - electromagnético, 125
 - fotoacústico, 375
 - general, 583
- Espectro de absorción 141 (*véase también* tipos específicos)
 - derivado, 370-372
 - efecto de la anchura de rendija sobre, 333
 - falsos picos en, 334
 - rayos X, 296-297
- Espectro de emisión, 138
 - atómico, 206 (*véase también* tipos específicos)
 - fluorescencia, 391, 393
 - iónico, 204, 248
 - quimioluminiscencia, 402
- Espectro de luminiscencia total, 396
- Espectro electromagnético, 125
- Espectro infrarrojo, regiones del, 435
- Espectrofluorímetro, 192, 393, 395-398
- Espectrofotometría de longitud de onda dual, 370

- Espectrofotómetro, 192
 de doble dispersión, 345
 efecto de la radiación dispersada en, 170
 de transformada de Fourier, 193 (*véase también* Instrumentos de transformada de Fourier)
 para espectroscopia en el infrarrojo, 422-429
 para espectroscopia de absorción atómica, 230
 para espectroscopia de emisión atómica, 250-257
 para espectroscopia Raman, 472
 para las regiones ultravioleta/visible, 343-347
- Espectrofotómetro computarizado, 342
- Espectrofotómetros de doble dispersión, 345, 472
- Espectrógrafo, 192, 262
- Espectrometría atómica de rayos X, 291-317
- Espectrometría de absorción en el infrarrojo, 126*t*, 409-432, 435-458
 cualitativa, 439-446
 cuantitativa, 446-449
 fotoacústica, 374 (*véase también* Espectrometría fotoacústica)
 instrumentación para, 422 (*véase también tipos específicos*)
 interfase de acoplamiento con cromatografía gas-líquido, GC/IR, 780
 manipulación de la muestra en, 436
 reflexión interna, 450
 teoría de, 410-419
 transductores de, 420
 transformada de Fourier, FTIR, 422-426 (*véase también* Transformada de Fourier)
- Espectrometría de absorción, 147 (*véase también* Absorbancia, análisis por absorción)
 fotoacústica, 374
 instrumentos para, 192-193 (*véase también* Fotómetro, espectrofotómetro)
 rayos X, 313
 ultravioleta/visible 322, 353-376 (*véase también* Espectroscopia ultravioleta/visible)
- Espectrometría de ion secundario molecular (SIMS), 271*t* (*véase también* Espectrometría de masas de ion secundario)
- Espectrometría de llama, 219 (*véase también* Espectroscopia de absorción atómica, Espectroscopia de emisión atómica, Espectrometría de fluorescencia atómica)
- atomización de la muestra para, 222-226
 respuesta plana de superficies fotoemisoras, 180
- Espectrometría de luminiscencia molecular, 381-404
- Espectrometría de masas atómica de ion secundario, 288 (*véase también* Espectrometría de masas de ion secundario)
- Espectrometría de masas atómica, 269-288
- Espectrometría de masas de fuente de chispa, SSMS, 271*t*, 285
- Espectrometría de masas de ion secundario, SIMS, 271*t*, 288, 540*t*, 579*t*, 590
- Espectrometría de masas de ionización térmica, TTMS, 271*t*
- Espectrometría de masas en tandem (MS/MS), 569
 instrumentos para, 570
- Espectrometría de masas, 203, 269-288
 acoplada, 568-570
 análisis elemental de superficies por, 288
 cuantitativo, 571
 fuente de chispa, SSMS, 271*t*, 285
 identificación de compuestos puros por, 563
 ion hijo, MS/MS, 569
 ion progenitor, MS/MS, 570
 ion secundario, SIMS, 271*t*, 590
 para análisis de superficies, 590
 plasma de acoplamiento inductivo, ICPMS, 279-285
 tandem, 569, 570
 transformada de Fourier, 560 (*véase también* Instrumentos de transformada de Fourier)
- Espectrometría de masas molecular, 537 (*véase también* Espectrometría de masas)
- Espectrometría de masas/plasma de corriente continua, DCP/MS, 271*t*
- Espectrometría de rayos gamma, 126*t*
- Espectrometría de rayos X, 126*t*, 203, 291-317
 fuentes de radioisótopos para, 295, 315
 instrumentación para, 298-311
- Espectrometría de reflexión, 450-453, 914
- Espectrometría en el infrarrojo cercano, NIR, 409, 436*t*, 453-457
 detector para, 453
 disolventes para, 454
 fuentes de radiación para, 454
- Espectrómetro, 192
 de barrido giratorio, 251
 de electrones, 582
 de fuente de plasma, 246-257
 de IR, 422
 de masas, 271, 551 (*véase también* Espectrómetro de masas)
 de rayos gamma, 887, 890
 de rayos X, 299, 308
 de RMN, 506-514
 de transformada de Fourier, 193 (*véase también* Instrumentos de transformada de Fourier)
 de UV/visible, 342-347
 fotoacústico, 375
 Raman, 472
- Espectrómetro con detectores en serie, 252, 396
- Espectrómetro de barrido con red de escalera, 252
- Espectrómetro de fuente de plasma, 250
- Espectrómetro de masas cuadrupolar, 272, 274, 561, 778
- Espectrómetro de masas de enfoque simple, 556
- Espectrómetro de masas de tiempo de vuelo (TOF), 271, 277, 557
- Espectrómetro de masas, 271 (*véase también tipos específicos*)
 computarizado, 561
 detectores para, 272, 550
 FT, 560
 fuentes de iones para, 271 (*véase también* Fuente de ionización)
 molecular, 563
 resolución de, 551 (*véase también* Resolución)
 sistema de entrada para, 271, 552
- Espectrómetros de barrido giratorio, 251
- Espectrómetros de masas de doble enfoque, 271, 278, 288, 556
- Espectros atómicos, 203
 factores que afectan, 207-211
 fuentes de, 203-207
- Espectros continuos, 144, 154, 211
- Espectros corregidos, espectrometría de fluorescencia, 396
- Espectros de absorción atómica, 207
- Espectros de bandas, 138, 140
 espectroscopia atómica, 211
 interferencias en, 235, 264
- Espectros de emisión atómica, 206
- Espectros de excitación
 fluorescencia, 391
 luminiscencia, 401
 Raman, 464
 UV/visible, 138
- Espectros de fluorescencia, 196
 rayos X, 297, 300

- Espectros de fluorescencia atómica, 207
- Espectros de iones, 204, 248
- Espectros de ionización por campo, 546
- Espectros de masas, 280
- colección de, 563, 565, 568
 - identificación de compuestos por los, 563-566
 - molecular, 538
- Espectros de primer orden, RMN, 503
- reglas que rigen los, 503
- Espectros de resonancia magnética nuclear
- de sólidos, 514, 521
 - efectos del entorno sobre, 494 (*véase también* Desplazamiento químico)
 - ensanchamiento de línea, 505, 521
 - escalas de abscisas en los, 497
 - interpretación de, 500, 503
 - tipos de, 493
- Espectros de resonancia magnética nuclear de impulsos, 482 (*véase también* Espectroscopia de Resonancia magnética nuclear de transformada de Fourier)
- Espectros de RMN de segundo orden, 505
- Espectros derivados
- espectroscopia Auger, 587
 - espectroscopia óptica, 370
- Espectros en el infrarrojo
- comparación con los espectros Raman, 466
 - dependencia del estado físico, 781
 - sistemas de búsqueda por ordenador para, 445
 - tablas de correlación para, 440, 442-443
- Espectros moleculares, 142
- en llamas, 235
- Espectros Raman
- colecciones, 4
 - comparación con espectros de IR, 466
 - de excitación, 464
 - intensidad de picos en, 470
- Espectros RMN de líneas anchas, 493
- instrumentos para, 507
- Espectros rotacionales, 138, 144, 487
- Espectroscopia atómica, 122 (*véase también* tipos específicos)
- límites de detección en, 235, 240t
- Espectroscopia atómica electrotérmica, 223-225
- absorción, ETAAS, 240t (*véase también* Espectroscopia de absorción atómica)
 - fluorescencia, ETAFS, 240t (*véase también* Espectroscopia de fluorescencia atómica)
- Espectroscopia atómica, introducción directa de la muestra 213t, 215
- Espectroscopia atómica óptica, 203-216
- Espectroscopia de absorción atómica, AAS, 147t, 219-239
- comparación con la espectroscopia de emisión atómica, 261t
 - fuentes para, 207, 227
 - instrumentos para, 227-230
 - interferencias que afectan, 230-237 (*véase también* Efecto de los disolventes)
 - límites de detección en, 239, 240t
- Espectroscopia de absorción de microondas, 125t, 144
- Espectroscopia de dispersión, 147t
- Espectroscopia de electrones, 580-590
- cualitativa, 583, 587, 588
 - cuantitativa, 586
 - instrumentación para, 582, 587, 591, 593
- Espectroscopia de electrones Auger, AES, 579t, 586-591
- Espectroscopia de electrones para análisis químico, ESCA, 579t (*véase también* Espectroscopia de electrones)
- Espectroscopia de emisión, 146, 147t (*véase también* Espectroscopia de emisión atómica, Espectroscopia de emisión en el infrarrojo, Espectrometría de emisión con fuente de arco y de chispa)
- Espectroscopia de emisión atómica, AES, 147t, 245-268
- comparación con la espectroscopia de absorción atómica, 261t
 - instrumentos para, 262, 266
 - límites de detección en, 240t
- Espectroscopia de emisión en el infrarrojo, 457
- Espectroscopia de emisión en fuente de chispa, 213t, 259-267
- instrumentación para, 262
- Espectroscopia de emisión en plasma, 246
- atomización del analito para, 248
 - cuantitativa, 258
 - instrumentos para, 250-257
 - interferencias, 259
- Espectroscopia de emisión óptica de plasma de acoplamiento inductivo, ICPOES, 284
- Espectroscopia de fluorescencia, 381 (*véase también* Fluorescencia)
- instrumentos para la, 192, 392-396
 - patrones para la, 399
 - reactivos para la, 399
- Espectroscopia de fluorescencia atómica, AFS, 147t, 239
- instrumentos para, 251-257, 262
 - interferencias en, 241
 - límites de detección en, 240t
- Espectroscopia de fluorescencia molecular, 381 (*véase también* Espectroscopia de fluorescencia)
- Espectroscopia de fosforescencia, 147t (*véase también* Fosforescencia)
- Espectroscopia de FT/RMN bidimensional, 524
- Espectroscopia de plasma de acoplamiento inductivo (ICP), 213t, 246
- curvas de calibrado en, 258-259
 - espectrómetro secuencial para, 251
 - fuentes para, 246
 - límites de detección en, 240t, 261t
- Espectroscopia de plasma de argón de corriente continua, 213t, 249
- Espectroscopia de plasma de argón de corriente continua, 246-249
- Espectroscopia de plasma de argón, 246-249
- Espectroscopia de plasma de corriente continua, DCP, 246, 249
- Espectroscopia de reflectancia interna, 450, 451
- Espectroscopia de resonancia de espín electrónico (ESR), 126t
- Espectroscopia de resonancia magnética nuclear, 481-530
- de alta resolución, 493, 494
 - de carbono-13, 517-522
 - de flúor-19, 523
 - de fósforo-31, 523
 - de protón, 514-517
 - de transformada de Fourier, 482, 489-493
 - descripción cuántica de, 482
 - desplazamientos químicos, 496 (*véase también* Desplazamiento químico)
 - instrumentación para, 507-514
 - línea ancha, 493
 - manipulación de la muestra en, 513
 - onda continua, 482
 - para isótopos distintos del protón, 518-523
- Espectroscopia de resonancia Raman, 464, 476
- Espectroscopia de RMN de alta resolución, 493 (*véase también* Espectroscopia de resonancia magnética nuclear)
- Espectroscopia de RMN de onda continua, 482, 486
- Espectroscopia de RMN de protón, 481 (*véase también* Espectroscopia de resonancia magnética nuclear)

- Espectroscopia de transformada de Fourier, 194 (*véase también tipos específicos*)
- Espectroscopia de ultravioleta de vacío, 126*t*, 258, 354
- Espectroscopia en el dominio de la frecuencia, 195
- Espectroscopia en el dominio del tiempo, 195 (*véase también tipos específicos*)
- Espectroscopia fotoacústica (PAS), 374
- en el infrarrojo, 376
- Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X, XPS, 579*t* (*véase también Espectroscopia de electrones*)
- Espectroscopia fotoelectrónica ultravioleta, UPS, 579*t*, 580
- Espectroscopia óptica, 125, 203
- celdas para, 151 (*véase también Cubetas*)
- detectores para, 176-188
- fuentes de radiación para, 153-163 (*véase también Fuentes*)
- instrumentos para, 151, 192-200 (*véase también tipos específicos*)
- selectores de longitud de onda para, 163-176
- Espectroscopia optoacústica, 374
- Espectroscopia Raman anti-Stokes coherente, CARS, 478
- Espectroscopia Raman de superficie aumentada, SERS, 478
- Espectroscopia Raman inversa, 478
- Espectroscopia Raman no lineal, 478
- Espectroscopia Raman Stokes coherente, 478
- Espectroscopia Raman, 126*t*, 147*t*, 463-478
- instrumentación para, 469-474
- no lineal, 478
- teoría de, 464
- Espectroscopia ultravioleta/visible, 126*t*
- absorción, 322
- aplicaciones, 353-376
- disolventes para, 365, 367*t*
- emisión, 245 (*véase también tipos específicos*)
- instrumentos para, 192, 335 (*véase también Fotómetro, Espectrofotómetro*)
- Espectroscopio, 192
- Espejo en sectores, 339
- Espesor de la película, de la fase estacionaria, GLC, 774
- Espín del electrón, 382
- y fosforescencia, 381
- Espín, nuclear, 482
- Estadística
- del recuento, 881
- evaluación de datos con, 919
- Estadística del recuento, radioquímica, 881-884
- Estado de oxidación, efecto sobre los espectros ESCA, 583
- Estado doblete, 382
- Estado fundamental, 138, 206
- Estado singulete, 205, 233, 383
- Estado triplete, 145, 206, 383, 387, 400
- Estados cuánticos magnéticos, distribución de las partículas entre los, 484
- Estados de energía, de átomos y moléculas, 137-144
- Estados electrónicos, 138, 354, 383
- Estados excitados singulete/triplete, 383
- Estados lógicos, cómputo binario, 81
- Estados metaestables
- en materiales láser, 156
- y fosforescencia, 145
- Estados moleculares excitados, 138 (*véase también Transiciones electrónicas*)
- desactivación de, 145 (*véase también Relajación*)
- Estados rotacionales, moleculares, 138, 144, 412
- Estados vibracionales, moleculares, 138
- Estados virtuales, moleculares, 465
- Etanol
- como disolvente para las regiones ultravioleta/visible, 366
- como gas amortiguador, tubo Geiger, 304
- espectro de RMN del, 494
- Etapas de electrodeposición, análisis por redisolución, 721
- Exactitud, 910
- Excitación eléctrica, espectroscopia atómica, 213*t* (*véase también Espectroscopias de fuente de arco, de fuente de chispa*)
- Excitación electrónica, 142
- Excitación por impulsos
- de núcleos, 491
- voltamperométrica, 715-719
- Excitación, de átomos y moléculas, 138
- Exponencial, propagación del error en la, 936*t*
- Expulsión, en el perfil de profundidad, análisis de superficies, 590
- Extinción, *E*, 323*t* (*véase también Absorbancia*)
- Extracción
- con quelatos, 239
- por FIA, 903
- supercrítica, SFE, 831, 838
- Extracción con fluidos supercríticos, SFE, 831, 837-840
- Extracción dinámica, SFE, 838
- Extracción estática, SFC, 838
- Extractor Soxhlet, 839
- Factor de corrección de caída de presión, *j*, GLC, 760
- Factor de obstrucción, k_p , cromatográfico, 742
- Factor de retardo relativo, R_p , 827
- Factor de retardo, R_f , cromatografía en capa fina, 826, 827
- Factor de retención, k' , 736, 749, 752*t*
- efecto
- en cromatografía de adsorción, 811
- en cromatografía de reparto, 740*t*, 743, 803, 810, 815
- en SFC, 833
- en TLC, 826
- sobre la resolución de la columna, 746, 747, 748
- y el término de transferencia de masa en la fase estacionaria, ecuación de Van Deemter, 743
- Factor de saturación, *S*, análisis por activación neutrónica, 889
- Factor de selectividad, α , cromatográfico, 716, 752*t*, 776, 804, 806, 835
- efecto sobre la resolución, 746, 747, 748, 811, 815
- Falso pico, en los espectros de absorción, 334
- Fantasmas (dobles imágenes), en la salida de la red, 170
- Faraday, *F*, 614, 679
- Faradio, *F*, 32
- Fase estacionaria, 620
- para GLC, 770, 773-775
- para SFC, 834
- para TLC, 825
- quiral, cromatografía de reparto, 776, 810
- selección de, 747, 803
- unida químicamente, 774
- y eficacia de la columna, 740*t*
- Fase estacionaria con enlaces entrecruzados, GLC, 774
- Fase estacionaria quiral, CSP
- GC, 776
- LC, 810
- Fase estacionaria unida químicamente, GLC, 774
- Fase móvil, 731 (*véase también tipos específicos*)

- efecto de la velocidad de flujo sobre la eficacia de la columna, 740, 761
 para GLC, 761, 767
 para HPLC, 801, 803
 para SFC, 834
 para TLC, 824
 selección de, para cromatografía de reparto, 746, 803, 804t, 811
- Fatiga, de la fotocélula, 179
- Fellgett, ventaja de, 195, 310
- Fenoles, absorción de la radiación en el infrarrojo por los, 444t
- FIA, 831 (*véase también* Análisis por inyección en flujo)
- Fibra óptica
 para espectroscopia de fluorescencia, 396
 para espectroscopia óptica, 190-192
 para espectroscopia Raman, 472
- Fibras ópticas, 189, 396
- Filtrado
 analógico, 108
 digital, 115 (*véase también* Filtrado digital)
- Filtrado analógico, 108
- Filtrado digital, 115-118
- Filtro de corte, 165
- Filtro de corte, 473
- Filtro de excitación, para el fluorómetro, 392
- Filtro de Fabry-Perot, 163 (*véase también* Filtro de interferencia)
- Filtro de masas, 275 (*véase también* Espectrometría de masas cuadrupolar)
- Filtro de paso bajo, 37
 para la reducción de ruido, 109, 112
 para polarografía de barrido lineal, 710
- Filtro RC, para la reducción del ruido, 108
- Filtros
 de corte, 165
 de interferencia, 165 (*véase también* Filtros de interferencia)
 ópticos, 163
 para fluorómetros, 392, 395
 para rayos X, 300
 para señales eléctricas, 37, 46
 selección de, 342
- Filtros de absorción, 163, 165
- Filtros de cuña, 165, 339
- Filtros de interferencia, 163
- Filtros de paso alto, 37, 230
 para la reducción de ruido, 108, 110
- Filtros de sección L, 47
- Filtros electrónicos de paso de banda estrecha, para la reducción del ruido, 109
- Fisión, nuclear, 878, 888
- Flavanol, como reactivo fluorimétrico, 399
- Flujo de calor, DSC, 871, 872
- Flujo de neutrones, ϕ , 888
- Flujo electroosmótico, electroforesis capilar, 843, 846
- Flujo laminar, en disoluciones, 699, 903
- Flujo por concentración, 633
- Flujo turbulento, en disoluciones en agitación, 699
- Flúor-19, RMN de, 482, 483t, 517, 523
- Fluorescencia, 151, 156, 381
 atómica, 239 (*véase también* Espectroscopia de fluorescencia atómica)
 factores que afectan a la, 390
 interferencia con los espectros Raman, 463, 473, 477
 rayos X, 297 (*véase también* Fluorescencia de rayos X)
 relajación por, 145, 354
 teoría de la, 382-387
 transiciones electrónicas en, 388 y concentración, 391
 y estructura molecular, 388-391
- Fluorescencia de rayos X, XRF, 295, 297, 308-314, 586, 593
- Fluorescencia de resonancia, 145, 207, 382
- Fluorescencia molecular, 147t (*véase también* Fluorescencia)
- Fluorescencia no resonante, 145
- Fluorescencia secundaria, como fuente de radiación, 299, 301
- Fluoróforo, 398
- Fluorolube, 439
- Fluorómetro, 192, 392, 394
- Fluoruro de hidrógeno, sonda sensible a gases para el, 659t
- Formación de óxidos, en las llamas, 222
- Fórmula molecular, determinación por espectrometría de masas, 564
- Fosforescencia, 151, 381, 387, 400
 factores que afectan, 396 (*véase también* Fluorescencia)
 relajación por, 145, 354
 teoría de, 382-386
- Fosforímetro, 397
- Fósforo-31, RMN de, 482, 483t, 523
- Fotocátodo, 135
- Fotoconducción, 177, 187
- Fotocorriente, 136
- Fotodescomposición, 364 (*véase también* Reacción fotoquímica)
- Fotodiodo, intervalo espectral para, 180
- Fotoelectrón, 296, 303
- Fotoluminiscencia, 381 (*véase también* Fluorescencia, Fosforescencia)
- Fotómetro, 62, 192, 267, 340
 de absorción ultravioleta, 342
 de reflectancia, 915
 infrarrojo de filtro, 430, 447
 no dispersivo, 429
 para análisis por absorción, 340
 para espectroscopia de emisión atómica, 267
 para espectroscopia de quimioluminiscencia, 402
 tipo sonda, 341
- Fotómetro de filtro, 266 (*véase también* Fotómetro)
- Fotómetro de reflectancia, 915
- Fotómetro sin filtro, IR, 431
- Fotómetro tipo sonda, 341
- Fotón, de radiación electromagnética, 123, 135, 282, 553
- Fotoplaca, sensible a iones, para el espectrómetro de masas, 287
- Fototubo, 135, 179
- Fración de rechazo del modo común, CMRR, 66
- Frecuencia
 ciclónica, ω_c , 558
 de la corriente alterna, f , 28
 de la radiación electromagnética, ν , 122, 123
 de Larmor, 486
 vibracional, 413
- Frecuencia angular,
 de corrientes sinusoidales, ω , 29
 de la partícula en precesión, ν_p , 486
- Frecuencia ciclónica, ω_c , 559
- Frecuencia de plegamiento, de la señal de FT/RMN, 511
- Frecuencia de precesión, 485 (*véase también* Frecuencia de Larmor)
- Frecuencia del interferograma, f , y frecuencia óptica, ν , 198
- Frecuencia duplicada, de la salida del láser, 163
- Frecuencia natural, ν_m , del oscilador mecánico, 414
- Frecuencia óptica, ν , y frecuencia del interferograma, f , 198
- Frecuencia vibracional
 de un enlace químico, 415
 del oscilador mecánico, 413
- Frentes de interferencia, 437
- Fuente continua, métodos de corrección, AAS, 232
- Fuente continua, para espectroscopia óptica, 154, 335
- Fuente de alimentación, en el laboratorio, 46
- Fuente de arco de mercurio, 154

- Fuente de arco de mercurio (*cont.*)
 para espectrometría de fluorescencia, 393
 para espectroscopia de absorción en el infrarrojo, 420
 para HPLC, 342, 795
- Fuente de arco, espectroscopia de emisión, 213*t* (*véase también* Fuente de chispa)
 atmósfera controlada, 264
 instrumentación para, 262
- Fuente de bombardeo con átomos rápidos (FAB)
 para el espectrómetro de masas, 540*r*, 550
 para electroforesis capilar, 851
- Fuente de descarga luminiscente
 espectrometría de masas, GDMS, 271*t*, 278, 287
 espectroscopia atómica, 213*t*, 216, 226, 267
- Fuente de desorción en plasma (PD), espectrómetro de masas, 540*r*
- Fuente de desorción por campo (FD), espectrometría de masas, 540*r*, 547
- Fuente de desorción/ionización asistida por una matriz (MALDI), espectrometría de masas, 540*r*, 547
- Fuente de emisión de llama, espectroscopia atómica, 266
- Fuente de filamento incandescente, para radiación en el infrarrojo, 420
- Fuente de impacto de electrones (EI), espectrómetro de masas, 540*r*, 541-544
 espectros con, 542-544
 reacciones en, 542
- Fuente de iones, para el espectrómetro de masas, 271*t* (*véase también* tipos específicos)
- Fuente de ionización, espectrómetro de masas, 271*t*
 desorción por campo, 540*r*, 547
 impacto de electrones, 540*r*, 543
 ionización por campo, 540*r*, 544
 química, 544
- Fuente de ionización por campo (FI), espectrometría de masas, 540*r*, 544
- Fuente de plasma de acoplamiento inductivo, espectrometría de masas, ICPMS, 271*t*, 279-285
 instrumentación para, 279
- Fuente de plasma de corriente continua (DCP), espectroscopia atómica, 250
- Fuente de plasma inducido por microondas (MIP), 213*t*, 246
 para espectrometría de masas, MIPMS, 271*t*
- Fuente de radiofrecuencia, para el espectrómetro de RMN, 506
- Fuente de termonebulización, TS, espectrómetro de masas, 540*r*, 800 (*véase también* Fuente de termovaporización)
- Fuente de termovaporización, TS, 540*r*, 800 (*véase también* Fuente de termonebulización)
- Fuente dura, espectrómetro de masas, 539
- Fuente en fase gaseosa, espectrometría de masas, 539, 540*r*
- Fuentes
 de la radiación electromagnética, 154 (*véase también* tipos específicos)
 para espectrometría de masas, 272*r* (*véase también* Fuente de ionización)
 para espectrometría de rayos X, 298-300
 para espectrometría UV/visible, 153-163, 335, 343
 para espectroscopia de absorción atómica, 227 (*véase también* Lámpara de cátodo hueco)
 para espectroscopia de electrones, 582
 para espectroscopia de emisión atómica, 246-250
 para espectroscopia de fluorescencia atómica, 241
 para espectroscopia de fluorescencia, 393
 para espectroscopia IR, 419, 425
 para espectroscopia Raman, 470
- Fuentes blandas, espectrómetro de masas, 539
- Fuentes de corriente constante, 67 (*véase también* Amperostato)
- Fuentes de líneas, espectroscopia óptica, 154, 155, 229
- Fuentes de potencial constante, 66 (*véase también* Potenciostato)
- Fuentes de radiación, 151 (*véase también* Radiación electromagnética)
 para espectroscopia de absorción atómica, 155 (*véase también* Lámpara de cátodo hueco)
 para espectroscopia en el infrarrojo, 419 (*véase también* Radiación en el infrarrojo)
 para espectroscopia ultravioleta/visible, 153-163 (*véase también* Lámpara de deuterio)
- Fuerza del campo ligando, 362, 365*t*
- Fuerza eluyente, ϵ° , cromatográfica, 804*t*, 811
- Fuerza iónica, μ , 945
 efecto sobre la respuesta del electrodo de vidrio, 665, 666
- Fuerzas electrostáticas, transporte de masa en disolución por, 633 (*véase también* Transferencia de masa)
- Función de error, 927
- Función de trabajo
 efecto fotoeléctrico, ω , 137
 para el espectrómetro de electrones, w , 582
- Función de transferencia, del transductor, 6, 10
- Función p, 642
- Funciones intensidad/potencial, en celdas electroquímicas, 630, 673, 674, 710
 en un circuito RC, 32-34
 para un diodo semiconductor, 42
 voltamperométrica, 701-702, 710
- Ganancia
 de BJT, β , 44
 del circuito amplificador operacional, 56, 59
- Ganancia de intensidad, β , diodo semiconductor, 44
- Ganancia de potencia, P_o/P_i , del amplificador operacional, 61
- Ganancia de tensión, A , del amplificador, 58
- Ganancia en lazo abierto, A , del amplificador, 56
- Ganancia Raman estimulada, 478
- Gas amortiguador, en el tubo Geiger, 304
- Gas de purga, termogravimetría, 864
- Gas natural, temperatura de la llama de, 221*t*
- Gases portadores, para GLC, 761
- Gases
 emisión de la radiación electromagnética por los, 138
 muestreo de, 436, 583, 909
 sobrepotencial asociado con los, 634
- Gauss, G, 482
- Gel de agarosa, electroforesis capilar en gel, 854
- Gel de metil celulosa, CGE, 854
- Gel de polietilenglicol, CGE, 854
- Gel policristalino, CGE, 854
- Generación de hidruros, espectroscopia atómica, 213*t*, 215, 226
- Generador de impulsos, espectrómetro de RMN, 508
- Geometría Matlack-Herzog, espectrómetro de masas, 286, 557

- Giro angular, 530
 Globar, 419
 Goniómetro, 300
 Grados de libertad
 en los datos, 924, 928
 para las vibraciones moleculares, 417
 Granate de alizarina R, como reactivo fluorimétrico, 400
 Grupo alcano, absorción de la radiación electromagnética por el, 358*t*, 444*t*
 Grupo alqueno, absorción de la radiación electromagnética por el, 358*t*, 444*t*
 Grupo alquino, absorción de la radiación electromagnética por el, 358*t*, 444*t*
 Grupo amido, absorción de la radiación electromagnética por el, 358*t*, 444*t*
 Grupo amino
 absorción en el infrarrojo por el, 444*t*
 como auxocromo, 359
 Grupo carbonilo, absorción de radiación electromagnética por el, 358*t*, 444*t*
 Grupo carboxílico, absorción de radiación electromagnética por el, 358*t*, 444*t*
 Grupo éster, absorción de radiación electromagnética por el, 444*t*
 Grupo éter, absorción de radiación electromagnética por el, 444*t*
 Grupo hidroxilo
 absorción de radiación electromagnética por el, 444*t*
 como auxocromo, 358
 Grupo nitrato, como cromóforo, 358*t*, 359
 Grupo nitrilo, absorción de radiación electromagnética por el, 444*t*
 Grupo nitro, absorción de radiación electromagnética por el, 358*t*, 444*t*
 Grupo nitroso, absorción de radiación electromagnética por el, 358*t*

 Haces de electrones
 como fuente de rayos X, 292
 interacción con sólidos, 579, 586
 Hardware, de un ordenador, 88
 para la mejora de la relación S/R, 106-111
 Haz de referencia
 del espectrofotómetro de absorción atómica, 229
 del espectrofotómetro infrarrojo, 427
 del fluorómetro, 392

 Haz primario, análisis de superficies, 578
 Haz secundario, análisis de superficies, 578
 Heisenberg, W., 145
 Helio como gas portador, GLC, 761, 767
 Heptano, como disolvente, 454*t*
 Hertz, H., 135
 Hertzio, Hz, 123
 Heyrovsky, J., 691
 Hidratación, de las membranas de vidrio, 646
 Hidrógeno
 abundancia isotópica de, 545*t*
 análisis automatizado para, 912
 como gas portador, GLC, 761, 767
 desprendimiento del, durante la electrólisis, 676
 efectos del sobrepotencial para, 634, 696
 Hidrógeno ion, generación externa del, 685
 Hidrógeno-1, RMN de, 482 (*véase también* Espectroscopia de resonancia magnética nuclear)
 Hierro(III), complejos de, transferencia de carga en, 363
 Hierro-55, desintegración radiactiva del, 295
 Histograma, 920
 Hoja de cálculo, 95
 Horno de grafito, para espectroscopia atómica, 224
 Horno, para análisis térmico, 864, 865, 867
 HPLC, 786 (*véase también* Cromatografía de líquidos de alta eficacia)
 Huecos, en los semiconductores, 40, 182, 184, 185

 Imagen de funcionamiento por resonancia magnética, fMRI, 529
 Imagen por resonancia magnética, RMI, 525-530
 Imán permanente, espectrómetro de RMN, 509
 Imán, para el espectrómetro de RMN, 506
 Impedancia, Z
 en circuitos RC, 35
 en el amplificador operacional, 61
 medida de, 39
 Incertidumbre
 en la medida de la transmitancia, 329
 Incertidumbre en la posición de la cúbeta, en espectrometría óptica, 330*t*, 332

 Incoherencia, de la radiación electromagnética, 130, 156
 Índice de polaridad, P' , cromatografía de reparto, 803, 804*t*, 811
 Índice de refracción, η , 131, 164
 de las fases móviles, 804*t*
 efecto sobre la absortividad molar, 325
 Índice de retención, I , GLC, 777
 Inductancia, en circuitos eléctricos, 31
 Inductor, 30, 31
 Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología (National Institute of Science and Technology) (NIST), como Suministrador de materiales estándar, 666, 923
 Instrumentos de barrido secuencial para espectroscopia de emisión en plasma, 250
 para espectroscopia de fluorescencia de rayos X, 308
 Instrumentos de diodos en serie para espectroscopia de absorción, 182, 339, 346
 para GC, 768
 para HPLC, 796
 Instrumentos de doble haz multicanal, 181-186, 346
 para AAS, 230
 para espectroscopia de fluorescencia, 392
 para espectroscopia de IR, 427
 para espectroscopia ultravioleta/visible, 337, 338, 340, 345
 Instrumentos de haz sencillo para espectroscopia de absorción atómica, 230
 para espectroscopia de absorción ultravioleta/visible, 337, 340, 343
 para espectroscopia FTIR, 427
 Instrumentos de tipo nulo, para espectroscopia de absorción, 339
 Instrumentos de transformada de Fourier, 200
 características del funcionamiento de los, 426
 como detector
 espectrométrico de masas, 778
 GLC, 770, 780
 HPLC, 794*t*, 796
 espectrometría de masas, 559-561 (*véase también* Detector espectrométrico de masas)
 espectroscopia de absorción en el infrarrojo, FTIR, 410, 422-427, 450, 451, 457
 espectroscopia de emisión de plasma, 250, 257
 espectroscopia Raman, 472

- Instrumentos de transformada de Fourier (*cont.*)
 fotoacústica, 376
 reflectancia difusa, DRIFT, 450
 resolución de los, 189
 RMN, 482, 506
 UV/visible, 257
 ventajas de los, 193, 427
- Instrumentos de un solo canal, fluorescencia de rayos X, 308
- Instrumentos dispersivos
 espectroscopia de fluorescencia atómica, 240
 espectroscopia fotoelectrónica de rayos X, 583
 espectroscopia óptica, 337-347
 IR, 427-429
- Instrumentos dispersivos de energías, espectroscopia de rayos X, 298, 308, 309, 595
- Instrumentos dispersivos de longitudes de onda
 para espectrometría de rayos X, 299, 308
 para espectroscopia de absorción, 343
 para microscopia de barrido de electrones, 595
- Instrumentos multicanal
 espectrometría óptica, 337, 339
 espectroscopia de emisión de plasma, 250, 252
 espectroscopia de fuente de chispa, 262, 263
 espectroscopia Raman, 471
 fluorescencia de rayos X, 308, 314
 para espectrometría de electrones, 584
- Instrumentos multiplex, espectroscopia óptica, 192 (*véase también* Espectrómetros de transformada de Fourier)
- Instrumentos no dispersivos, fluorescencia atómica, 241
 fluorescencia de rayos X, 308, 310
 infrarrojo, 422, 429
- Integración, circuito para la, 69
- Integración de la señal, espectroscopia de RMN, 512
- Integrador por grupos (boxcar), 114
- Integrador, para coulombimetría potenciostática, 680, 683
- Intensidad de campo eléctrico, E , y migración iónica, 845
- Intensidad del campo eléctrico, E , electroforesis capilar, 845
- Intensidad radiante, I , de la radiación electromagnética, 124, 323*r*
- Intensidad relativa de reflectancia $f(R'_g)$, 450
- Intensidad, I , de la radiación electromagnética, 124
- Interacción por polarización, espectroscopia de RMN, 497
- Intercambiadores de aniones
 para cromatografía iónica, 803
 para electrodos de membrana, 654
- Intercambiadores de cationes
 cromatografía iónica, 814
 en electrodos de membrana, 654
- Intercambiadores de iones, cromatográficos, 792
- Intercambio iónico, en el electrodo de membrana, 644, 648
- Intercambio químico, efecto en los espectros de RMN, 505
- Interfase, 89
- Interferencia constructiva, 126, 129, 297, 437
 en el interferómetro, 197
 en las redes, 168
- Interferencia de hidróxidos
 espectroscopia atómica, 235
 ICPMS, 281
- Interferencia de los iones de óxidos refractarios, espectrometría de masas atómica, 282
- Interferencia del ion poliatómico, espectrometría de masas atómica, 282
- Interferencia destructiva, 131, 132, 164, 297
 en un interferómetro, 197
- Interferencia por aniones, espectroscopia de absorción atómica, 234, 235
- Interferencia por cationes, espectroscopia de absorción atómica, 235
- Interferencia por ion aductor, espectrometría de masas atómica, 282
- Interferencia por iones de doble carga, espectrometría de masas atómica, 282
- Interferencia por óxidos
 espectroscopia atómica, 235
 ICPMS, 281
- Interferencias
 espectroscopia atómica, 230-237
 espectroscopia de emisión de plasma, 261
 ICPMS, 280-282
- Interferencias espectrales, espectroscopia atómica, 230
- Interferencias espectroscópicas, ICPMS, 281
- Interferencias isobáricas, espectrometría de masas atómica, 282
- Interferencias químicas
 espectroscopia atómica, 234-237
 espectroscopia de emisión de plasma, 261
- Interferente, 16
- Interferograma, 198
- Transformación de Fourier, 198-200
- Interferómetro
 de Michelson, 197
 para espectroscopia de absorción, 423, 473
- Intervalo de concentración, como parámetro de calidad, 12*r*
- Intervalo de confianza, 929
 para la estadística del recuento de radiación, 883
- Intervalo Geiger, de los detectores de gas, 303
- Intervalo útil, de los datos, 14, 16
- Inversión de la población, en láser, 158
- Inyección de la muestra
 cromatografía en columna, 751
 electroforesis capilar, 849
 espectroscopia de emisión ICP, 247
 FIA, 902
 GLC, 762
 HPLC, 791
 TLC, 825
- Inyección electrocinética, electroforesis capilar, 849
- Inyección por presión, electroforesis capilar, 848
- Ion fluoborato, electrodo de membrana para, 655*r*
- Ion hidróxido, generación externa del, 685
- Ion hijo
 espectrometría de masas, 542
 MS/MS, 569
- Ion molecular, espectrometría de masas, 538, 541, 543*r*
- Ion nitrato, absorción UV/visible por el, 359, 367, 444*r*
- Ion progenitor, MS/MS, 570
- Ion radical, espectrometría de masas, 538
- Iones actínidos, absorción por, 359
- Iones de metales de transición, absorción de radiación por, 360
- Iones, fotoplaca sensible a , para el espectrómetro de masas, 272, 287
- Ionización
 desorción, 547
 en la fuente de ICP, 248
 en llama, 234, 236
- Ionización por electronebulización, ESI, espectrómetro de masas, 540*r*, 548
- Ionización química (CI), fuente de en la detección
 en HPLC, 799
 en SFC, 807
 espectrómetro de masas, 540*r*, 545
 espectros de, 545

- Isoelectroenfoque capilar, CIEF, 852, 856-858
- Isómeros, resolución por cromatografía líquido-sólido, 811
- Isotacoforesis capilar, CITP, 852, 855
- Isótopos estables, 878
- Isótopos radiactivos, 877
- Jaquinot, ventaja de, espectroscopia de transformada de Fourier, 193
- Johnson, ruido de, 105 (*véase también* Ruido térmico)
- Kirchoff, leyes de, 23
- L'vov, plataforma de, 224
- LabView[®], 93
- LabWindows[®], 93
- Lámpara de arco como fuente continua, 154
- Lámpara de arco de xenón, como fuente
espectroscopia de fluorescencia, 393
espectroscopia ultravioleta/visible, 154, 337
- Lámpara de cátodo hueco, como fuente de líneas, AAS, 155, 228, 241
- Lámpara de descarga sin electrodos, como fuente de líneas, 155, 228, 240
- Lámpara de deuterio, 154, 232, 335, 346, 795
- Lámpara de filamento de wolframio, como fuente de radiación, 155, 336, 346, 420
- Lámpara de hidrógeno, 335
- Lámpara de wolframio/halógeno, 336
- Lantánidos, iones, absorción por los, 360
- Larmor, frecuencia de, 486, 489
- Láser de cuatro niveles, 158
- Láser de diodos semiconductores, 160
- Láser de diodos, 160, 470*t*
- Láser de dióxido de carbono, 159, 420
- Láser de excímero, 159
- Láser de gas, 155, 159
- Láser de gas de átomos neutros, 159
- Láser de gas molecular, 159
- Láser de ion argón, 159, 470*t*
- Láser de ion criptón, 470*t*
- Láser de iones, 159
- Láser de Nd-YAG, 159, 163, 394, 470*t*, 591
- Láser de nitrógeno, 159, 394
- Láser de nitrógeno pulsante, 159, 394
- Láser de rubí, 159
- Láser de tres niveles, 158
- Láser helio-neón, 159, 424, 470*t*, 591
- Láser sintonizable, 159, 420
- Láser, ablación por,
espectrometría de masas, 278, 279
espectroscopia atómica, 213*t*, 216
- Láser, como fuente, 155-163
para espectroscopia de fluorescencia, 239, 394
para espectroscopia fotoluminiscente, 361
para espectroscopia Raman, 470
para radiación en el infrarrojo, 420
- Láser, detección de fluorescencia, CE, 850
- Láser, excitación por, espectroscopia de emisión, 470
- Láser, fuente de desorción (LD), espectrómetro de masas, 547
- Láser, microsonda de
espectrometría de masas, LMMS, 271*t*, 288, 579*t*, 591
espectroscopia de emisión, 268
Raman, 476
- Láser, muestreo, ICPMS, 280
- Láser, sistema de referencia de franjas, espectrómetro de transformada de Fourier, 423
- Láser, sistemas, de tres y cuatro niveles, 158
- Láseres de colorantes, 155 (*véase también* Láser sintonizable)
- Láseres de estado sólido, 155, 159
- Lente objetivo, electrónica, 593
- Lentes condensadoras, electrónica, 593
- Ley de Hooke, 412
- Ley de la potencia, 23
- Ley Duane-Hunt, 293
- Ley normal de error, 926
- Límite
de cuantificación, LOQ, como parámetro de calidad, 12*t*, 14
de linealidad, LOL, como parámetro de calidad, 12*t*, 14
- Límite de confianza, LC, 928
- Límite de exclusión, cromatografía de exclusión por tamaño, 821
- Límite de penetración, cromatografía de exclusión por tamaño, 821
- Límites de detección
en espectroscopia atómica, 239, 240*t*, 261*t*
para espectroscopia de emisión de plasma, 261
para ICPMS, 283
parámetros de calidad para, 12*t*, 14
- Línea de resonancia
de absorción, 207
de emisión, 206
- Línea pi (π), diagrama de desdoblamiento Zeeman, 233
- Línea sigma (σ), diagrama de desdoblamiento Zeeman, 233
- Líneas de los espectros, 138
anchura de, 207, 227
rayos X, 293-295
- Líquidos
análisis por absorción en el infrarrojo de, 438
análisis Raman de, 472
muestreo automático de, 909
- Litio, como patrón interno de, AES, 268
- Llama de acetileno, temperatura de, 221*t*
- Llama de hidrógeno, temperatura de la, 221*t*
- Llamas
estructura de la, 220
reacciones en la, 220
temperatura de la, para espectroscopia atómica, 220
- Logaritmo
obtención de, 70
propagación del error en, 936*t*
- Longitud de la columna, *L*, 737, 752*t*
- Longitud de onda mínima límite, para emisión de rayos X, 297
- Longitud de onda, λ , de la radiación electromagnética, 122, 123
de las líneas de emisión de rayos X, 293
- Longitud del tubo, efecto sobre la dispersión, FIA, 904
- Longitudes de onda, dispersión, por los monocromadores, 165-170
- Luminol, como reactivo quimioluminiscente, 405
- Macromoléculas, dispersión de la radiación por las, 371
- Manipulación de la muestra
espectrometría atómica, 237-239, 261
espectrometría en el infrarrojo, 436
espectroscopia de RMN, 513
espectroscopia fotoelectrónica de rayos X, 582
SEM, 595
TLC, 825
- Mapa de superficie de la muestra, microscopia de barrido de electrones, 593
- Marcadores, radioquímicos, 887, 893
- Martin, A. J. P., 730, 737, 759
- Masa exacta, *m*, de isótopos, 270
- Masa nominal, de los átomos, 270
- Masa reducida, μ , del oscilador mecánico, 414
- Materiales de referencia certificados, SRM, 923

- Materiales fotoemisores sensibles al ultravioleta, 180
 Mathcad (, programa de resolución de ecuaciones, 96
 Matriz, 16
 Máximo de corriente, en ondas polarográficas, 714
 Mecanismo de tracción, interferómetro de Michelson, 423
 Media, 112
 de conjuntos pequeños, X, 921
 desviación estándar de la, 927 (*véase también* Desviación estándar)
 error estándar de la, 927
 verdadera, μ , 921
 Media de la muestra, 921, 924
 Media de la población, μ , 924
 Medida del tiempo de vida, de las especies fosforescentes, 401
 Medidor de iones, 661
 Medidor de pompas de jabón, 706, 763
 Membrana homogénea, para sonda sensible a gases, 657
 Membrana microporosa, para sonda sensible a gases, 657
 Membrana supresora de fibra, cromatografía iónica, 816
 Memoria de acceso aleatorio, RAM, 91
 Memoria de almacenamiento masivo, del ordenador, 92
 Memoria de lectura/escritura, 92
 Memoria del ordenador, 91
 Memoria del ordenador, 91
 Memoria sólo de lectura borrrable, EPROM, 92
 Memoria sólo de lectura modificable eléctricamente, EAROM, 92
 Memoria sólo de lectura, ROM, 91
 en termobalanza, 866
 Mercurio
 control automatizado para, 907
 vaporización en el frío del, 226
 Metano, como gas amortiguador, tubo Geiger, 304
 Método basado en las discontinuidades de absorción, espectrometría de rayos X, 309
 Método de calibración del electrodo, para medidas potenciométricas directas, 663
 Método de corrección con una fuente continua, AAS, 232
 Método de corrección de las dos líneas, espectroscopia de absorción atómica, 232
 Método de cubeta dentro/cubeta fuera, espectroscopia de IR cuantitativa, 447
 Método de la adición estándar, 16-19
 para análisis polarográfico, 719
 para análisis por absorción, 368
 para análisis por activación neutrónica, 890
 para espectroscopia atómica, 239
 para medidas potenciométricas directas, 665
 Método de la línea base, espectrometría IR cuantitativa, 447
 Método de los mínimos cuadrados, 17, 937
 Método de mínimos cuadrados, 937
 Método de normalización del área, análisis cromatográfico, 754
 Método del patrón interno, 19
 para análisis cuantitativo en espectrometría de masas, 356
 para análisis por rayos X, 313
 para cromatografía en columna, 754
 para espectroscopia de electrones, 586
 para espectroscopia de emisión, 259, 266, 268
 para espectroscopia de RMN, 497, 514
 para espectroscopia fotoelectrónica de rayos X, 586
 para ICPMS, 278, 283, 285
 para SSMS, 287
 Métodos acoplados, 271, 777
 GCIR, 780
 GCMS, 568, 778
 ICPMS, 271*t*
 Métodos basados en una propiedad de la disolución, electroanalítica, 634
 Métodos cinéticos, FIA, 907
 Métodos de absorción de rayos X, 126*t*, 297
 Métodos de absorción directa, análisis por rayos X, 314
 Métodos de activación destructivos, 889, 891
 Métodos de corrección de fondo en análisis radioquímico, 883
 espectroscopia atómica, 230-234
 Métodos de correlación, para tratamiento de los datos, 118
 Métodos de difracción de rayos X, 314-316
 Métodos de dilución, rayos X, análisis cuantitativo, 311
 Métodos de flujo detenido
 FIA, 906
 HPLC, 791
 Métodos de ionización por desorción, espectroscopia de masas, 538, 540*t*, 547
 Métodos de luminiscencia, 147*t*, 381-404
 Métodos de redisolución catódica, 721
 Métodos de relación isotópica
 ICPMS, 280, 543
 isótopos estables, 878
 isótopos presentes en la naturaleza, 545*t*
 radiactivos, 877 (*véase también* Isótopos radiactivos)
 radioquímicos, 877, 891
 Métodos dinámicos, electroquímicos, 634
 Métodos espectroquímicos, 122, 476*t*, 322
 Métodos estáticos, electroquímica, 634
 Métodos instrumentales, 1, 2*t*
 Métodos radioquímicos
 activación, 877 (*véase también* Activación neutrónica)
 dilución isotópica, 887 (*véase también* Dilución isotópica)
 estadística del recuento para, 881-884
 instrumentación para, 885-887
 Métodos semicuantitativos, espectroscopia de emisión, 265
 Métodos térmicos, 864-874
 Mezclas
 análisis de
 por espectroscopia de absorción, 325, 368, 447
 por métodos acoplados, 568-570
 por espectroscopia de RMN, 514
 voltamperogramas de, 702
 Mezclas combustible/oxidante, para espectroscopia de llama, 220
 Micela, 401, 402
 Michelson, interferómetro, 196, 423
 Microbalanza de cristal de cuarzo, QCM, 10
 Microelectrodo
 plano, relaciones corriente/concentración en, 698, 699
 voltamperométrico, 691, 692, 694
 Microespectrometría en el infrarrojo, 458
 Microespectrometría, IR, 457
 Micrómetro, μm , 123, 409
 Micrón, 123, 409
 Microordenadores, en la instrumentación química, 11, 87, 229, 865
 Microprocesadores, en instrumentación química, 11, 87
 Microscopia de barrido de efecto túnel, STM, 593, 597-601
 Microscopia de electrones, 593
 Microscopia de fuerzas atómicas, AFM, 593, 597, 601-627
 Microscopia de sonda de barrido, SPM, 593, 597

- Microscopio de Binnig/Rohrer, 597
 Microscopio electrónico de barrido, SEM, 593, 594-596
 Microsonda,
 de electrones, 317, 578, 579*t*, 589, 591
 láser, 268 (*véase también* Microsonda láser)
 Microsonda Auger, 588 (*véase también* Microsonda de electrones)
 Microsonda de electrones, EM, 579*t*, 591
 para análisis de superficies, 591
 para espectroscopia de rayos X, 317
 Migración, transporte de masa en la disolución por, 611, 633, 698
 Millikan, R., 135
 Mineralización por vía húmeda, 237
 Misión Mars Pathfinder, 313, 318, 319
 Modalidad activa del funcionamiento del ordenador, 97, 99
 Modalidad de barrido por contacto, AFM, 579
 Modalidad de lectura no destructiva (NDRO), de dispositivos de inyección de carga, 185
 Modalidad de trabajo por contacto intermitente (Tapping mode), AFM, 602
 Modelo ondulatorio, dispersión Raman-Rayleigh, 466
 Modelos de fragmentación, espectrometría de masas, 542
 información estructural a partir de los, 566
 Módem, 9
 Moderación, de neutrones, 887
 Modo de empobrecimiento, transistor MOSFET, 45
 Modo de intensificación, transistor MOSFET, 45
 Modos normales, de vibración molecular, 417
 Modos vibracionales
 moleculares, 412, 417-419
 y efecto Raman, 468
 Modulación
 de la salida, lámpara de cátodo hueco, 228
 de las señales en el dominio de la frecuencia, 196
 para la reducción del ruido, 108
 Modulación de la amplitud, 40
 Modulación de la frecuencia, 40
 Modulación de la fuente, espectroscopia de absorción atómica, 229
 Modulación de la longitud de onda, en un espectrofotómetro, 370
 Modulación/desmodulación sincrónica, para la reducción del ruido, 110
 Momento angular, p , del núcleo, 483
 Momento magnético nuclear, μ , 483
 Momento magnético, nuclear, 483, 486
 Monocromador, 163, 165-171
 características de funcionamiento del, 170, 172*t*
 componentes del, 166, 172
 de cristal, 300, 582
 de prisma, 167
 de red, 168-172
 del espectroscopio Raman, 471
 dispersión del, $dr/d\lambda$, 167, 170
 para detectores de HPLC, 795
 para el fluorímetro, 392, 395
 para rayos X, 300, 314
 poder de captación de la luz del, 171
 poder de resolución, R , del, 171
 Monocromador de cristal, 300, 582
 Monocromador de prisma, 167 (*véase también* Monocromador)
 Monocromador de rayos X, 300 (*véase también* Analizador de altura de impulso)
 Monocromador de red de escalera, 171, 251, 254
 Monocromador de red, 168-172 (*véase también* Monocromador)
 Montaje de Eagle, espectrógrafo de red, 262
 MOSFET, transistor, 45
 Movilidad electroforética, μ_e , 845
 Movilidad, iónica, 615
 Movilización, de las bandas enfocadas, CIEF, 858
 Movimiento armónico simple, 412
 Movimiento de rotación, molecular, 417
 Movimiento de traslación, molecular, 417
 Muestra, estadística de la, 924
 Muestras de referencia, para espectroscopia de arco/chispa, 265
 Muestreador de bomba reversible, 909
 Muestreador de jeringa, 791, 910
 Muestreo
 automatización del, 909
 de la señal de audio, FT/RMN, 511
 en analizadores de flujo continuo, 901
 espectroscopia de plasma, 247
 fibra óptica, espectroscopia Raman, 471
 Muestreo y retención
 amplificador, 88
 circuito, polarografía TAST, 715
 Muestreo, sistemas de, por láser pulsante, para ICPMS, 280
 Multicromóforos, absorción en el UV/visible por, 360*t*
 Multímetro digital DMM, 26, 27, 39
 Multiplicación
 circuito para, 68
 propagación del error en, 936*t*
 Multiplicador de electrones de dínodo continuo, para el espectrómetro de masas, 272
 Multiplicador de electrones
 para el espectrómetro de electrones, 583
 para el espectrómetro de masas, 272, 277
 Multiplicidad
 de los picos de RMN, 503
 espectral, 383
 Nanómetro, nm, 123
n-Butano, como fluido supercrítico, 832*t*
 Nebulización neumática, espectroscopia atómica, 213*t*, 214
 Nebulización ultrasónica, espectroscopia atómica, 213*t*, 214
 Nebulización, en espectroscopia atómica, 213-216, 222-226, 247
 Nebulizador de Babington, espectroscopia atómica, 214, 258
 Nebulizador de disco fritado, espectroscopia atómica, 213
 Nebulizador de flujo cruzado, espectroscopia atómica, 214, 247
 Nefelometría, 147*t*
 Nernst, W., 615
 Neutrino, ν , 878*t*, 879
 Neutrón, n 878*t*
 fuentes de, 887
 interacciones con la materia, 888
 Neutrones rápidos, 887, 891
 Neutrones térmicos, 887
 Newton, N., 416
n-Hexano, como disolvente, para las regiones ultravioleta/visible, 367*t*
 Nier-Johnson, geometría de, espectrómetro de masas, 557
 Nitrato, ion
 absorción UV/visible por, 359, 368
 electrodo de membrana para, 655*t*
 Nitrógeno
 abundancia isotópica del, 545*t*
 análisis automatizado del, 912
 como gas de purga, 703, 789, 865
 como gas portador, GLC, 761
 Nitrógeno ureico en sangre, BUN, determinación de, 659
 Nivel de confianza, 931
 Niveles de energía, en un campo magnético, 483
 Normal a la red, 168
 Nucleido hijo, 878

- Nucleido progenitor, 878
 Núcleo del plasma de ICP, 248
 Núcleos
 precesión de, 485
 propiedades magnéticas de, 483
 Nujol, 439
 Numeración binaria, 9, 78-84
 Número atómico, Z , 878
 Número cuántico de espín, 1, 483
 Número cuántico vibracional, v , 415
 Número de masa atómica, A , 878
 Número de onda, ν , de la radiación electromagnética, 124, 199, 200
 Número de platos teóricos, N , 737, 746, 752*t*, 804
 cromatografía en capa fina, 824
 electroforesis capilar, 781
 evaluación de, 739, 746
 Número de platos, N , 738 (véase también Número de platos teóricos)
 Número f , del monocromador, 171
 Número másico, A , 878
 Nyquist, Teorema de, 113, 511
- Obstrucción de la unión, 641
 Obturador, 343
 Ohm, ley de, 22, 627, 856 (véase también Caída óhmica)
 Onda evanescente, espectroscopia de reflectancia interna, 451
 Onda polarográfica, 701, 712
 corriente máxima en, 714
 de grupos funcionales orgánicos, 719
 de las reacciones irreversibles, 702
 de mezclas, 702
 efecto
 de la formación de complejos en, 713
 del pH en, 720
 Onda voltamperométrica, 697
 Ondas anódicas, voltamperométricas, 702
 Ondas del oxígeno, polarográficas, 703
 Ondas electromagnéticas, superposición de las, 125
 Ondas
 descripción matemática de, 125
 polarográficas, 715 (véase también tipos específicos)
 superposición de las, 125
 Ondulación, 46
 Operación instrumental dentro de línea, 89
 Operaciones unitarias, análisis químico, 898, 899*t*
 Óptica para electrones, 593
 Óptica para electrones, 593
- Optrodo, 190
 Orbital molecular antienlazante, 355
 Orbitales d
 desdoblamiento de, 361
 energía de, 361
 Orbitales moleculares enlazantes, 355
 Orbitales moleculares π (n), 355
 Orbitales moleculares, 355-359
 y absorción de radiación, 355
 y fluorescencia, 387
 Orden de difracción, n , de la red, 169
 Orden de elución
 electroforesis capilar, 848
 intercambio iónico, 812
 Orden, n
 de difracción, 169
 de interferencia, 130, 144
 Ordenada en el origen, b , de la curva de calibrado, 937
 desviación estándar de, s_p , 938
 Ordenador, 11
 aplicaciones del, 97-102
 componentes del, 90-93
 modos de operación de, 89
 sistemas de entrada/salida para, 92
 Oscilador
 anarmónico, 416
 armónico, 412
 Oscilador anarmónico, 416
 Oscilador armónico, 412, 413
 Oscilador mecánico, frecuencia vibracional del, 413
 Osciloscopio, 48
 OSHA, 448*t*
 Oxidación, en las celdas electroquímicas, 610
 Óxido de deuterio, como moderador de neutrones, 866
 Óxido nitroso
 como fluido supercrítico, 832*t*
 como oxidante, espectroscopia de llama, 220, 232
 Óxidos de nitrógeno, determinación de, 403, 657
 Oxígeno
 abundancia isotópica del, 545*t*
 análisis automatizado para, 913
 como gas de purga, 865
 como oxidante, espectroscopia atómica, 220
 control coulombimétrico de, 683
 desprendimiento durante la electrólisis, 674
 efecto sobre la fluorescencia, 387, 391
 efectos del sobrepotencial del, 634, 674
 sensor para, 704
 Oxígeno disuelto, efecto sobre la fluorescencia, 387, 390
- Ozono, análisis del, 367, 403
- Palabra, de los datos del ordenador, 88
 Pantalla de cristal líquido, LCD, 51
 Parafina, como moderador de neutrones, 887
 Paramagnetismo, 382, 498
 efecto sobre la fluorescencia, 387, 391, 399
 Parámetro del desplazamiento químico, δ , espectroscopia de RMN, 498
 Parámetros de calidad, 12, 12*t*
 Parámetros del pico anódico (E_{pa} , i_{pa}), voltamperometría cíclica, 709
 Parámetros del pico catódico (E_{pc} , i_{pc}), voltamperometría cíclica, 709
 Pares iónicos, cromatografía (PC), 808
 Partícula alfa, α , 878*t*
 medida de, 896*t*
 Partícula beta, 878*t*
 medida de, 885
 Pasivación, de las superficies metálicas, 589
 Pastillas, de las muestras, 262, 438
 Pauli, principio de exclusión, 382
 Pauli, W., 481
 Películas multicapa
 electrodos para pñon, 660
 en análisis automatizado, 914-917
 Pendiente, m , de la curva de calibrado, 937
 desviación estándar de, s_p , 938
 Perclorato, ion, electrodo de membrana para, 655*t*
 Pérdidas por reflexión, en las interfaces aire-vidrio, 134, 322
 Perfil de absorbancia, en llamas, 221
 Perfil de concentración
 cromatográfico, 732
 en la superficie del microelectrodo, 698-701
 Perfil de profundidad, 579
 espectroscopia de electrones, 588, 590
 Perfil de zona, FIA, 903
 Perfil del flujo
 electroosmótico, 846, 858
 laminar, 699, 903
 Perfil isobárico, SFC, 833
 Perfiles de la llama, 221
 Perfiles de temperatura, en las llamas, 221
 Periodicidad, de ondas, 127, 195
 Período
 de la corriente alterna, t_p , 29*t*
 de la radiación electromagnética, p , 123 (véase también Período de pulsación)

- de las transiciones en el dominio del tiempo, 6
- Peróxido de hidrógeno, complejación con el, 368
- Peso atómico químico, *A*, 270
- Peso atómico, 270
- Peso molecular
 - determinación
 - por cromatografía de exclusión por tamaño, 821
 - por espectrometría de masas, 562-567
 - promedio, 270
- Peso promedio, atómico/molecular, 270
- pH
 - definición operacional del, 669
 - medida potenciométrica del, 646, 665-667
- pH-metro de lectura directa, 661
- pH-metro, 661
- Pico base, espectro de masas, 539, 542, 545, 562
- Pico, cromatográfico, 733
- Picos de los iones moleculares, identificación de, 565
- Picos de los isótopos, en espectros de masas, 543
- Picos de productos de colisiones, espectrometría de masas, 543, 545
- Picos, espectrometría de masas
 - base, 539, 562
 - ion molecular, 538 (*véase también* Ion molecular)
 - productos de colisión, 543*t*, 545
- Picos múltiple, en espectros de RMN, 500-503
- Picos Raman normales, 468
- Pilas reversibles, 611, 701
- pIon, medidor de, 661
- Pirrolidinaditiocarbamato de amonio, como reactivo quelante, 238
- Pixel, 184, 256, 526
- Placa, del condensador, 31
- Placas aceleradoras, espectrómetro de masas, 541
- Placas de alta eficacia, cromatografía en capa fina, 825
- Placas de control, del CRT, 48
- Planck, constante, *h*, 31, 282
- Planck, M., 137
- Plano focal, del monocromador, 165
- Plano nodal, de los electrones π , 355
- Plasma, 246, 248
- Plata, ion
 - valoraciones amperométricas con, 706
 - electrodo de estado sólido para, 653*t*
- Platino
 - como electrodo indicador redox, 644
- como microelectrodo voltamperométrico, 706, 710
- Plato, teórico, 738
- Platos teóricos, 737 (*véase también* Número de platos teóricos)
- Plegado, de la señal de RMN, 511
- Plomo(II), electrodo de membrana sólida para, 653*t*
- Población, de datos, 924
- Poder de captación de la luz, del monocromador, 171
- Poisson, distribución de, 881
- Polarizabilidad, α , del enlace químico, 466
- Polarización
 - de átomos y moléculas, 131, 162
 - de la radiación electromagnética, 123, 132, 134, 162, 233, 468, 486
 - electroquímica, 627-633, 691
- Polarización cruzada, de la señal de RMN, 522
- Polarización de concentración, 632-633 durante la electrólisis, 675, 676, 680 en voltamperometría, 691
- Polarización de reacción, 632 (*véase también* Sobrepotencial)
- Polarización directa, del diodo semiconductor, 42
- Polarización por adsorción, de la celda electroquímica, 631
- Polarización por desorción, en la celda electroquímica, 631
- Polarografía,
 - de barrido lineal, 710
 - de muestreo de corriente, 691
 - de onda cuadrada, 716, 717
 - diferencial de impulsos, 715-717 instrumentación para, 692
 - métodos de redisolución, 721, 723
- Polarografía (Tast), de muestreo de corriente, 715
- Polarografía de impulsos, 715-719
- Polarografía de onda cuadrada, 716, 718
- Polarografía diferencial de impulsos, 715-717, 722
- Polarografía Tast, 715
- Polarograma, 711 (*véase también* Onda polarográfica)
- Policromador, 192, 252, 264
- Polietilenglicol, como fase estacionaria, GLC, 774*t*
- Polímeros
 - métodos térmicos de análisis para, 866, 869
 - para cromatografía de exclusión por tamaño, 819
 - porosos, para cromatografía gas-sólido, 782
- Polímeros porosos, para cromatografía gas-sólido, 782
- Polisiloxanos, como fase estacionaria, GLC, 774*t*
- Ponderación, de los datos, 928
- Porcentaje de reflectancia, %*R*, 916
- Porcentaje de transmitancia, %*T*, 147 de filtros, 164
- Portadores mayoritarios de corriente, en los semiconductores, 40
- Portadores minoritarios de corriente, en los semiconductores, 40
- Positrón, 878*t* (*véase también* Desintegración beta)
- Potasio, ion, electrodo de membrana líquida para, 654
- Potencia radiante, *P*, de la radiación electromagnética, 124, 146, 323*t*
- Potencia, *P*, de la radiación electromagnética, 124 (*véase también* Potencia radiante)
- Potencial, 22 (*véase también* Tensión)
 - cambios en el, durante la electrólisis, 673
 - control del, 66 (*véase también* Potenciostato)
 - de asimetría, 648
 - de celda, 613 (*véase también* Potenciales de celda)
 - de electrodo de membrana, 648 (*véase también* tipos específicos)
 - de electrodo, 616 (*véase también* Potencial de electrodo)
 - de inversión, voltamperometría cíclica, 708
 - de saturación, fototubo de vacío, 179
 - de semionda voltamperométrica, 697, 702
 - de semipila, 616 (*véase también* Potencial de electrodo)
 - de superficie, *E*, electrodo de vidrio, 648
 - de unión líquida, 609 (*véase también* Potencial de unión líquida)
 - del electrodo de vidrio, 649
 - formal, 626, 949
 - medida del, 63, 639
 - ohmico, de celdas electroquímicas, 627 (*véase también* Potencial ohmico)
 - termodinámico, 614, 674
- Potencial de asimetría, electrodo de vidrio, 648, 649, 663
- Potencial de cambio, voltamperometría cíclica, 708
- Potencial de electrodo, 616, 618, 949 cálculo de, 623-625 (*véase también* Ecuación de Nernst)

- Potencial de electrodo (*cont.*)
 efecto
 de la actividad sobre el, 608
 de la concentración sobre el, 620 (*véase también* Ecuación de Nernst)
 de la temperatura sobre el, 620
 de los equilibrios competitivos sobre el, 624
 convenio de signos para, 619
 estándar, E^0 , 615 (*véase también* Potencial estándar de electrodo)
 formal, 626
 limitaciones de uso del, 625-626
 medida del, 622
 velocidades de reacción y, 626
 Potencial de la celda, E_{cel} , 551, 614
 cálculo del, 627
 efecto
 de la actividad sobre, 613
 de la corriente sobre, 609 (*véase también* Caída IR, Polarización)
 instrumentos para la medida del, 660
 Potencial de la puerta, V_{DS} , 45, 80
 Potencial de la semicelda, 616 (*véase también* Potencial de electrodo)
 Potencial de oxidación, 619
 Potencial de saturación, del fototubo, 180
 Potencial de semionda, $E_{1/2}$, 697, 702
 Potencial de semipila relativo, 617
 Potencial de superficie, E_s , electrodo de membrana de vidrio, 648
 Potencial de unión líquida, 609, 611, 615, 618, 663, 666
 Potencial de unión, 609 (*véase también* Potencial de unión líquida)
 Potencial del cátodo, cambios en, durante la electrólisis, 675
 Potencial estándar de electrodo, E^0 , 615, 628, 630, 949 (*véase también* Potencial normal de electrodo), limitaciones de la utilización de, 625
 Potencial formal, 626, 949
 Potencial normal de electrodo, E^0 , 615, 618, 620, 949 (*véase también* Potencial estándar de electrodo),
 Potencial óhmico, IR , en las celdas electroquímicas, 627-629
 Potencial umbral, V_0 , 136
 Potenciales de corriente continua, en celdas electroquímicas, 609, 613
 Potenciales termodinámicos de celda, 612, 613, 673
 cálculo de, 627
 Potenciometría, 639-668, 916 (*véase también* Análisis potenciométrico directo)
 instrumentos para, 915
 potenciométrico, 643
 Potenciómetro, 24, 661
 Potenciostato, 66, 679, 681
 Pozos de potencial, 184
 Precesión, de los núcleos en un campo magnético, 485
 Precisión
 como parámetro de calidad, 12*t*, 13
 de los métodos cuantitativos de los espectros de masas, 572
 Precolumna, HPLC, 793
 Predisociación, de las moléculas excitadas, 386, 388
 Presión crítica, 831
 Principio de incertidumbre, 145, 208
 Principio de superposición, 125
 Prisma, 167
 Prisma Cornu, 167
 Prisma de Littrow, 167
 Problema general de la elución, cromatografía en columna, 750
 Procesado en tiempo real, de los datos, 89, 780
 Procesador de la señal, 9
 para espectroscopia óptica, 151, 188
 para el espectrómetro de rayos X, 302, 306
 Procesos cinéticos, en el ensanchamiento de la banda cromatográfica, 740-744
 Procesos de desintegración radiactiva, 878
 Procesos endotérmicos, DTA, 868
 Procesos exotérmicos, DTA, 868
 Producción de pares, 879
 Programación de temperatura, cromatografía en columna, 750
 Programación del disolvente, columna cromatográfica, 750, 791
 Programación del ordenador, 94
 Programación en lenguaje ensamblador, 94
 Programación, 93
 Promediado
 conjunto, 112
 por grupos (Boxcar), 113
 Promediado conjunto, 112 (*véase también* Promediado de la señal)
 Promediado por grupos (boxcar), 113
 Propagación del error en la multiplicación, 936*t*
 Propiedades mecánico-cuánticas, de la radiación electromagnética, 135-146, 415
 Propiedades ondulatorias, de la radiación electromagnética, 123-135
 Proyecto Genoma Humano, 844
 Proyecto Manhattan, 812
 Puente salino, 609, 616, 664
 Puerta, electrónica, 45, 76
 Punta, microscopio de barrido de efecto túnel, STM, 588, 598
 Punta, para STM, 600
 Puntas de microinyección, electroforesis capilar, 849
 Punto crítico, 831
 Punto de cruce, del haz de electrones, 588
 Punto de ebullición, de la fase móvil, HPLC, 804*t*
 Punto de suma, S , en un amplificador operacional, 58
 Punto isoeléctrico, pI, 857
 Purcell, E., 481
 Purga, 703, 789
 Quemadores de flujo laminar, para espectroscopia atómica, 222
 Quemadores, para espectroscopia atómica, 222 (*véase también* Nebulización)
 Química electroanalítica, 607 (*véase también* tipos específicos)
 Química electroanalítica en la interfase, 634
 Quimioluminiscencia, 138, 147*t*, 151, 381, 402-404
 Quinhidrona, transferencia de carga, 364
 Radiación blanca, región de rayos X, 292
 Radiación circularmente polarizada, momento magnético de, 486
 Radiación de cuerpo negro, 141, 336, 393, 420
 Radiación dispersada, efecto sobre las medidas de absorbancia, 170, 232, 334
 Radiación electromagnética, 122 (*véase también* tipos específicos)
 absorción de, 132 (*véase también* Absorción de radiación electromagnética)
 coherente, 130, 155, 156
 cuerpo negro, 141 (*véase también* Radiación del cuerpo negro)
 difracción de la, 128 (*véase también* Difracción)
 dispersión de la, 132 (*véase también* Dispersión Raman)
 dispersión refractiva de la, 132, 167
 emisión de, 138-141, 385
 fuente de, 151, 153-163, 227, 299, 335, 419

- incoherente, 130
- intensidad, I , de la, 124, 323*t*
- monocromática, 124, 155
- polarización de la, 123, 134
- potencia, P , de la, 124, 323*t*
- propiedades mecano-cuánticas de la, 135-146
- propiedades ondulatorias de las, 122-135
- reflexión de la, 133
- refracción de la, 132
- térmica, 140
- transductores de la, 6, 177
- transmisión de la, 131
- Radiación electromagnética polarizada en el plano, 123 (*véase también* Polarización)
- Radiación en el infrarrojo
 - excitación por, 143
 - fuentes para, 155, 335, 419, 425
 - transductores de, 186-188, 420-421, 426
- Radiación monocromática, 124
- dependencia de la ley de Beer, 327
- Radiación parásita,
 - efecto en la ley de Beer, 328
 - en los monocromadores, 170
- Radiación polarizada
 - y desdoblamiento Zeeman, 233
 - y espectros Raman, 468
- Radiación policromática, 124
- efecto sobre la ley de Beer, 327
- Radiación térmica, emisión de, 141
- Radiación ultravioleta/visible
 - especies que absorben, 354
 - excitación electrónica por, 142, 354
 - fuentes de, 154-163
- Radiación, electromagnética, 122 (*véase también* Radiación electromagnética)
- Radiactividad
 - productos de desintegración, 879
 - unidades de, 880
 - velocidades de desintegración, 880
- Radicales, banda espectral de, 138, 140
- Radioisótopos, como fuente
 - de neutrones, análisis por activación, 885
 - de rayos X, 295, 299, 300
- Raíz cuadrática media (rms)
 - corrientes, 30, 106
 - ruido, 106, 112
- Raman, C. V., 463
- Rastreo programado, 579, 592, 598, 601
- Rayos gamma, 292, 295, 878*t*, 879
- emisión de los, 295
- medida de los, 885
- Rayos X, 291
 - absorción de, 126*t*, 296, 314
 - detección de, 302
 - difracción de, 297, 302*t*, 314-316
 - emisión de, 291, 297, 593, 595, 596, 880
 - filtros para, 300
 - fuentes para, 295*t*
 - generación de, 140, 291-295
- Reacción fotoquímica, 354, 364, 427, 468, 470, 477
- Reacciones de precipitación, efecto sobre los potenciales de electrodo, 624
- Reacciones irreversibles, relación corriente/potencial para las, 702
- Reacciones reversibles, electroquímica, 611
 - relaciones intensidad/potencial para, 701
- Reactancia
 - en circuitos eléctricos, 30
 - en un condensador, 35
- Reactancia capacitiva, X_C , 31, 35
- Reactancia inductiva, 30
- Reactivos quelantes
 - para análisis por absorción, 368
 - para espectrometría de fluorescencia, 399
- Reactor en serpentín, FIA, 900
- Reactor, como fuente de neutrones, análisis por activación, 887
- Recipiente de la fase móvil, HPLC, 789-792
- Recogida en continuo
 - de datos, 89
 - SFC, 839
- Recogida independiente
 - de datos, 89
 - SFC, 839
- Rectificación, 40
- Rectificador, 42, 46
- Rectificador de corriente, diodo semiconductor, 42
- Recuento de electrones, 583
- Recuento de fotones
 - espectroscopia de rayos X, 302
 - espectroscopia UV/visible, 188
- Recuento de fotones correlacionados (resueltos) en el tiempo, 190
- Recuento, fotones, 188
- Red de escalera de resistencias ponderadas, 84
- Red de escalerilla, 168
- Red de reflexión, para el monocromador, 166, 167
- Red de transmisión, 168
- Red patrón, 168
- Red réplica, 168
- Red, de ordenador, 99
- Red, del núcleo absorbente, espectroscopia de RMN, 488
- Red, reflexión, 167, 168
- Redes cóncavas, 169, 345
- Redes de ordenadores, 99
- Redes holográficas, 169, 251, 346
- Redes locales, LAN, 101
- Reducción, en celdas electroquímicas, 610
- Reflectancia, R , 439, 915
- Reflectancia difusa, 436*t*, 450, 455, 916
- Reflexión especular, 450, 916
- Reflexión interna total, 189
- Reflexión total atenuada, ATR, 450, 452
- Reflexión, de la radiación electromagnética, 133
- Refracción, de la radiación electromagnética, 132, 167
- Región de frecuencias de grupo
 - espectro infrarrojo, 439, 440*t*
 - espectro Raman, 475
- Región de la cámara de ionización, del detector de gas, 303
- Región de la huella dactilar
 - en el espectro de infrarrojo, 439, 445
 - Raman, 475
- Región del contador proporcional del detector de gas, 303
- Región del enlace triple, espectro de infrarrojo, 439
- Región del infrarrojo lejano, 409
- espectrometría en la, 436*t*, 457
- Región del infrarrojo medio, 409
- espectrometría en la, 427, 435-449
- Región ultravioleta/visible, 126*t* (*véase también* Espectroscopia ultravioleta/visible)
- Registrador de desplazamiento, del detector PDA, 184
- Registrador de laboratorio, 48
- Registrador x - y , 50
- Registradores, 49
- Registro acumulado, 396
- Registro, del ordenador, 88
- Reglas de selección
 - para espectros de emisión atómica, 206
 - para transiciones vibracionales, 416
- Regulador de conmutación, 48
- Regulador de tensión, 46
- Reguladores del combustible, para espectroscopia de llama, 223
- Relación carga/tamaño, electroforesis capilar, 845
- Relación de despolarización Raman, p , 468
- Relación de despolarización, p , espectroscopia Raman, 468
- Relación giromagnética, γ , 483, 488, 518

- Relación masa/carga, de iones, m/z , 270, 551, 562
- Relación señal/ruido (S/R), 103 (*véase también características de los instrumentos específicos*)
mejora de, 106-118, 189, 195, 234, 310, 330, 333, 347, 409, 717
- Relajación
de las especies excitadas, 138, 144, 354, 384, 538
en un campo magnético, 486
- Relajación electrónica, 145, 354
- Relajación espín-espín, RMN, 488
- Relajación espín-red, RMN, 488, 522
- Relajación longitudinal, RMN, 488
- Relajación no radiante, de especies excitadas, 144
- Relajación nuclear, en un campo magnético, 486
- Relajación transversal, 488
- Relajación vibracional, desactivación por, 140, 145, 385
- Relleno de la columna
efecto sobre el ensanchamiento de banda, 743
para HPLC, 787, 793, 820
- Relleno de partículas porosas, HPLC, 793, 815, 820
- Rellenos pelliculares
para cromatografía iónica, 815
para HPLC, 793
- Rellenos recubiertos, cromatografía iónica, 793
- Reloj
para el culombímetro, 684
para el recuento digital, 82
- Remolino, difusión en, ensanchamiento de banda por, 741
- Rendijas, para el monocromador, 166, 172, 252, 345
- Rendimiento cuántico, ϕ , de la emisión fluorescente, 387
- Repulsores, fuente de impacto de electrones, 541
- Residuales, de los datos, 937
- Resistencia
efecto en el ruido térmico, 105
en una celda electroquímica, 627
medida de, 26, 63
- Resistencia no compensada, en el potenciómetro, R_u , 684
- Resolución
cromatográfica, R , 733, 745, 752
del espectrómetro de transformada de Fourier, 194, 200, 561
del espectrómetro masas, R , 277, 552, 553
efecto de la anchura de la rendija sobre, 174
- electroforética, 845
- óptica, 174
- Resolución de la columna, cromatográfica, 745 (*véase también Resolución*)
- Resonancia de espín electrónico, 144
- Resonancia doble internuclear, 506
- Resonancia magnética nuclear, RMN
descripción clásica de, 485-488
descripción cuántica de, 482-485
relajación y saturación en, 487
teoría de, 482-484
- Respuesta de frecuencia, del amplificador operacional, 59
- Restricción, columna cromatográfica para fluidos supercríticos, 833, 838
- Retardo por rozamiento, de iones, 845
- Retardo, δ , en un interferómetro, 199
- Retroalimentación
en el circuito amplificador operacional, 58
en el ordenador, 99
- Retroalimentación negativa, en el amplificador operacional, 58, 59
- Retrodispersión, de electrones, 314, 593, 596
- Rigidez estructural, y fluorescencia, 389
- RMN de carbono-13, 483, 517-522
- RMN, 144 (*véase también Resonancia magnética nuclear*)
- Robótica, 910
- Rotación con ángulo mágico, 522
- Rotación de la muestra, espectrometría RMN, 488, 510
- Rotación de la muestra, espectroscopia de RMN, 488, 510
- Rotación de las bandas laterales, espectroscopia de RMN, 510
- Rotámetro, 224
- Ruido (R), N , 5, 103
efecto en la precisión del análisis espectrofotométrico, 329-333
fuentes de, 104, 106
reducción del, 106-118
- Ruido ambiental, 104, 106
- Ruido blanco, 105
- Ruido cuadrático medio (ruido eficaz), 112
- Ruido de disparo, 104, 106, 177, 195, 330, 331
- Ruido de origen químico, 104, 571
- Ruido de parpadeo ($1/f$), 105, 106, 195, 213, 330, 332, 344
efecto en la medida de la transmitancia, 332
- Ruido de parpadeo de la fuente, 105 (*véase también Ruido de parpadeo*)
- Ruido del amplificador, 331
- Ruido instrumental, 105, 189
efecto sobre el análisis espectrofotométrico, 329-333
- Ruido térmico, 105, 177, 331, 420
- Ruido, uno dividido por $f(1/f)$, 105 (*véase también Ruido de parpadeo*)
- Salida no lineal del láser, 162
- Sangrado, de la fase estacionaria, GLC, 774
- Saturación, de niveles de energía, espectroscopia de RMN, 487, 507
- Sección transversal de captura
para fotones, 324, 353
para neutrones, σ , 887
- Segmentos en serie, 256
- Selección de la línea, espectroscopia de emisión en plasma, 258
- Selección de la longitud de onda, para espectroscopia óptica, 151, 163-176, 368
- Selectividad, como parámetro de calidad, 12, 15
- Selector de alturas de impulsos, para el espectrómetro de rayos X, 307
- Semiconductor de germanio, propiedades del, 40, 42
- Semiconductor de silicio, propiedades del, 40, 42
- Semiconductor tipo n , 41
- Semiconductor tipo p , 40
- Semiconductor, 39, 40
- Semirreacciones, 611 (*véase también Celdas electroquímicas*)
- Sensibilidad, como parámetro de calidad, 12, 13
- Sensor, 10, 11
biocatalítico, 658
de fibra óptica, 190
voltamperométrico, 704
- Sensor de fibra óptica, 190, 396
- Sensor de oxígeno de Clark, 704
- Sensor enzimático, 705
- Sensor voltamperométrico, 704
- Señal
analítica, 5 (*véase también Dominios*)
analógica, 6, 78 (*véase también Señales analógicas*)
digital, 7, 78
media del blanco, S_{br} , 14
- Señal de excitación
RMN, 507
voltamperométrica, 692, 693
- Señal de salida, del analizador electro-térmico, 225
- Señal de tensión escalonada, 85

- Señal en escalera ADC, 85, 716, 719
- Señal intermitente, para instrumentos de absorción atómica, 228 (*véase también* Modulación)
- Señal portadora, espectrómetro de RMN, 511
- Señal promedio, 112, 194, 347, 508
- Señales analíticas, 103
- Señales analógicas, 26, 78, 93
- Señales de entrada de impulsos, efecto en los circuitos RC, 38
- Señales del transductor, amplificación y medida de, 61-66
- Señales digitales, 78
- Separaciones
 cromatográficas, 729, 754
 electroforéticas, 843 (*véase también tipos específicos*)
 en el analizador de flujo continuo, 902
- Separaciones cromatográficas, 729-754 (*véase también tipos específicos*)
- Separador de chorro, GC/MS, 778
- Separador
 GC/MS, 778
 ICPMS, 279
- Serie K de rayos X, 293
- Serie L de rayos X, 293
- Serie, de datos, 112
- Serie de datos codificados en sistema binario, 9
- Servosistema, 49
- Sesgo,
 en medidas, 922
 ensayos para, 933
 parámetros de calidad para, 12*t*, 13
- Seudofase estacionaria, MECC, 861
- Siegbahn, K., 580
- Sigma (σ), orbitales moleculares, 355
- Sílice, como relleno de la columna, 793, 801, 811, 820
 cromatografía de adsorción, 811
 HPLC, 794, 810
- Sílice, cubetas de, 176 (*véase también* Cuarzo)
- Silicio, abundancia isotópica del, 545*t*
- Sililación, de columnas cromatográficas
 de fase líquida unida químicamente, 801
 GC, 771
- Siloxanos, como fase estacionaria
 GLC, 774*t*
 SFC, 834
- SIMS, 271*t* (*véase también* Espectrometría de masas de ion secundario)
- Sistema de bombeo
 para FIA, 898
 para HPLC, 790-792
- Sistema de caída libre de inducción (FID), FT/RMN, 489, 491, 507
- Sistema de cuatro disolventes, para la optimización de la resolución, cromatografía de reparto, 807
- Sistema de detección en cuadratura, FT/RMN, 512
- Sistema de detección selectivo de iones
 analizador de película en fase sólida, 916
 FIA, 905
- Sistema de entrada electroforético, espectrómetro de masas, 552, 553
- Sistema de entrada indirecto, para un espectrómetro de masas, 551
- Sistema de entrada, en el espectrómetro de masas, 271, 552
- Sistema de fijación (*lock*) campo-frecuencia, espectrómetro de RMN, 509
- Sistema de iluminación de la muestra, espectroscopia Raman, 470
- Sistema de introducción de muestras, para espectrómetro de masas, 271, 552-554
- Sistema decimal codificado en binario (BCD), 79, 83
- Sistema interferométrico de luz blanca, espectrómetro FT, 423
- Sistema numérico binario, 9, 79-84
- Sistema receptor, espectrómetro de RMN, 511
- Sistemas automáticos, 315, 897, 909
- Sistemas automatizados, 897, 898
- Sistemas de búsqueda por ordenador
 para espectros de infrarrojo, 445
 para espectros de masas, 569
- Sistemas de detección, 10
- Sistemas de electrodos selectivos de moléculas, 656-658
- Sistemas de entrada capilares, espectrometría de masas, 552, 553
- Sistemas de entrada cromatográficos, para el espectrómetro de masas, 552, 553
- Sistemas de entrada y salida, para ordenadores, 92
- Sistemas de flujo segmentado, 899
- Sistemas de gestión de la información en los laboratorios, LIMS, 101
- Sistemas de tratamiento de disolventes, HPLC, 789-791
- Smith-Hieftje, método de corrección de, espectroscopia de absorción atómica, 234
- Snell, ley de, 132
- Sobrepotencial de cristalización, en la celda electroquímica, 627, 631
- Sobrepotencial de difusión, en la celda electroquímica, 627, 631
- Sobrepotencial de reacción en celdas electroquímicas, 627, 631
- Sobrepotencial de transferencia de carga, 631
- Sobrepotencial, 631 (*véase también* Sobrevoltaje)
- Sobretonos, en los espectros de infrarrojo, 417, 454
- Sobrevoltaje, η , 631, 634, 674
- Software para la resolución de ecuaciones, 95
- Software, del ordenador, 84, 89-94
 para mejorar la relación S/R, 112-118
- Solapamiento espectral
 espectroscopia de electrones, 583
 espectroscopia óptica, 172
- Solenoides, 509
- Solenoides superconductor, espectrómetro de FT/RMN, 509
- Sólidos
 análisis por absorción en el infrarrojo de, 438, 450
 análisis Raman de, 471
 conducción en, 610
 espectroscopia atómica de, 215, 226, 261
 espectroscopia fotoacústica de, 375
 ICPMS de, 280
 manipulación automática de, 912
 RMN de, 514, 521
- Solutos, migración a través de la columna cromatográfica, 731, 736
- Sonda
 espectrómetro RMN, 508
 sensible a gases, 656
- Sonda de la muestra
 espectrómetro de masas, 552
 espectrómetro de RMN, 510
- Sondas sensibles a gases, 656, 704
- Soportes sólidos, GLC, 771
- Spectronic 20,
 espectrofotómetro, 343
- Suavizado polinomial de los datos por mínimos cuadrados, 115-117
- Suavizado, de datos, 115-118
- Sulfato de quinina, como fluoróforo patrón, 398
- Sulfato de triglicina, como transductor piroeléctrico, 187, 421
- Sulfuro de hidrógeno, electrodo sensible a gases para, 659*t*
- Sulfuro de plomo, como fotoconductor, 186, 347, 422, 454
- Sulfuro, ion, electrodo de estado sólido para, 653*t*
- Suma
 circuito para, 68
 propagación del error en, 936*t*
- Sumas, propagación del error en, 936

- Superficies fotoemisoras bialcalinas, 180
- Superficies fotoemisoras de alta sensibilidad, 180
- Superficies fotoemisoras sensibles al rojo, 180
- Superposición, principio de, 125
- Supresión del eluyente, cromatografía iónica, 812, 816
- Supresores de ionización, espectroscopia de absorción atómica, 237
- Susceptibilidad magnética, 499
- Suspensión, 213
- Suspensiones, 439
- Sustitución en el anillo, y absorción UV/visible, 358
- Sustracción
 circuito para, 68
 propagación del error en, 937*t*
- Syngé, R. L. M., 730, 738, 759
- Tablas de correlación
 de desplazamientos químicos, para espectroscopia de RMN, 502*t*, 503*t*, 522
 para espectros de infrarrojo, 440, 444-445
 para espectros Raman, 475
- Tamaño de muestra, y eficacia de la columna HPLC, 787
- Tamaño de partícula, efecto sobre la eficacia de la columna, 743, 772, 788
- Tamices moleculares
 para cromatografía gas-sólido, 781
 para electroforesis capilar en gel, 854
- Tampón frontal, CITP, 855
- Tampón terminal, CITP, 855
- Tampones
 para electroforesis capilar, 844, 846, 852
 para isotacoforesis capilar, 855
 para la escala de pH operacional, 668*t*
- Técnicas de doble resonancia, espectroscopia de RMN, 506
- Temperatura
 crítica, 831
 de la fuente de arco, 264
 de las fuentes de chispa, 265
 de las fuentes de plasma, 248, 249
 medida de, análisis térmico, 865
- Temperatura crítica, 831
- Tensioactivo, para MECC, 861
- Tensión, 22 (*véase también* Potencial)
 control de la, con un amplificador operacional, 66 (*véase también* Potenciostato)
- en circuitos RC, 31
 medida de, 26, 39
 umbral, 136
- Tensión de compensación, amplificadores operacionales, 56
- Tensión de ruptura, de un diodo semiconductor, 43, 47
- Tensión Zener de ruptura, para el diodo semiconductor, 42
- Teoría cinética, de la cromatografía de elución, 737
- Teoría de la velocidad, de cromatografía de elución, 737, 739
- Teoría del campo cristalino, 360
- Teoría del plato, 738
- Termalización, de neutrones, 887
- Terminal común, de BJT, 43
- Terminal no inversora, del amplificador operacional, 56
- Terminales inversoras y *n* inversoras, en amplificadores operacionales, 56
- Término de la difusión longitudinal, *B/u*, 741, 742, 761
- Término de la transferencia en la fase móvil (*C_Mu*),
 columna cromatográfica, 742*t*, 743
- Término de transferencia de masa en la fase estacionaria, *C_su*, cromatografía en columna, 742*t*
- Término del camino múltiple, *A*, ecuación de Van Deemter, 741, 742*t*
- Terminología del ordenador, 93
- Termistor, 187, 421
- Termobalanza, 864, 865
- Termograma diferencial, 867, 868, 871
- Termograma,
 diferencial, 869 (*véase también* Termograma diferencial)
- Termogravimetría, TG, 864-867
- Termopar, 187, 865, 869
 como detector de radiación en el infrarrojo, 421
 en la termobalanza, 865
- Termopila, 187, 421
- Tesla, T, 482
- Tetracloroetileno, como disolvente, espectroscopia IR, 437
- Tetracloruro de carbono, como disolvente
 espectrometría de IR, 437, 453
 espectrometría de RMN, 513
- Tetrametilsilano (TMS) como patrón interno, espectroscopia de RMN, 497
- Tiempo de acceso, a la memoria del ordenador, 91, 92
- circuitos ca, 28-39
- Tiempo de apertura, de un integrador por grupos, 114
- Tiempo de ascenso instrumental, 329-333
- Tiempo de ascenso, *t_p*, 60, 105
- Tiempo de relajación, *T₁*, *T₂*, espectroscopia de resonancia magnética nuclear, 487-489
- Tiempo de retención ajustado, *t'_R*, cromatográfico, 752*t*, 776
- Tiempo de retención, cromatográfico, *t_R*, 735, 752*t*, 760, 773, 815
 efecto sobre la resolución, 746
 y razón de distribución, 735
- Tiempo, medida de, 84
- Tiempo muerto
 cromatográfico, *t_{MR}*, 735, 752*t*
 del contador de centelleo, 305
 del tubo Geiger, 304
- Tierra de diatomeas, como soporte sólido, GLC, 770, 771
- Tierra virtual, en circuitos con amplificadores, 58
- Tiocianato, ion
 complejación con, 364, 368
 electrodo de estado sólido para, 653*t*
- Tiselius, A., 844
- Toma de tierra, para la reducción de ruido, 26
- Trampa de iones, 558, 559
- Trampa de iones, resonancia iónica ciclotrónica, espectrómetro de masas, 558
- Transductor, 5, 10, 177-188, 420, 427 (*véase también* Detector) (*véase también* tipos específicos)
 amperométrico, 798
 de centelleo, 272, 305
 de diodos en serie, 182
 de fotoconductividad, 178
 de fotones, 302
 de germanio, 305
 de rayos X, 302, 314
 de respuesta general, 834
 electronebulizador, 850
 IR, 177
 para el fluorómetro, 395
 para espectroscopia de emisión, 252, 262
 para espectroscopia óptica, 178 (*véase también* tipos específicos)
 piroeléctrico, 187
 semiconductor, 178 (*véase también* Detector de fotoconductividad)
 térmico, 177
 ultravioleta/visible, 179
 voltamperométrico, 704, 798
- Transductor de entrada, 5 (*véase también* Detector)
- Transductor de germanio
 para espectroscopia Raman, 472

- para rayos gamma, 890
- Transductor de radiación, 177 (*véase también* Transductor)
- Transductor de salida, 6 (*véase también* Lectura)
- Transductor piezoeléctrico, 598, 599, 600
- Transductores de calor, para la radiación en el infrarrojo, 186-188 (*véase también* Transductores térmicos)
- Transferencia de carga, sobrevoltaje, en la celda electroquímica, 627 (*véase también* Polarización)
- Transferencia de hidruros, ionización química en MS, 545
- Transferencia de masa
 - cromatográfica, 737, 740, 741, 743
 - en celdas electroquímicas, 611, 631, 633, 698
 - extractiva, 839
- Transferencia de protones, espectros de masas de ionización química, 545
- Transformación, de la señal de FT/RMN, 511
- Transformada de Fourier, FT, 127, 193-200
 - del interferograma, 198
 - filtrado digital por, 115
- Transformada de Hadamard, espectroscopia óptica, 423
- Transformador, 46
- Transición de fase, análisis térmico de la, 870
- Transición vítrea, de los polímeros, 869
- Transiciones $\sigma \rightarrow \sigma^*$, 355
- Transiciones $\pi\text{-}\pi^*$, 355, 356, 388
- Transiciones electrónicas, 141, 354-356
 - y fluorescencia, 382
- Transiciones $n \rightarrow \sigma^*$, 355, 356
- Transiciones $n \rightarrow \pi^*$, 355, 356, 359, 388
- Transiciones prohibidas, 206, 353, 384
- Transiciones rotacionales, 144, 412
- Transiciones vibracionales/rotacionales, moleculares, 412
- Transiciones, electrónicas, 141 (*véase también* Transiciones electrónicas)
- Transistor, 40, 43
- Transistor de efecto de campo de semiconductor de óxido metálico, MOSFET, 45
- Transistor de efecto de campo selectivo de iones, ISFET, 655
- Transistor de efecto de campo, FET, 45, 306, 421
- Transistor de unión bipolar, BJT, 43-45
- Transistor *pnp*, 43
- Transistores *npn*, 43
- Transmisión, *T*, 323*t*
 - de la radiación electromagnética, 130
- Transmitancia, *T*, 323*t*
 - efecto del ruido instrumental en, 329
 - medida de, 148, 322, 329
- Transmitancia fuera de escala, en instrumentos de absorción en el infrarrojo, 429
- Tratamiento pasivo de los datos, 97, 98
- Trayectoria de los iones, en el cuadrupolo, 275
- Trenes de ondas, de la radiación electromagnética, 130
- Tritiocarbonato, ion, absorción UV/visible por, 358
- Tswett, M., 730, 786, 810
- Tubo analizador, espectrómetro de masas de tiempo de vuelo, 277, 557
- Tubo de Coolidge, 299
- Tubo de rayos catódicos, CRT
 - como dispositivo de lectura, 48
 - para microscopia electrónica de barrido, 593
- Tubo fotomultiplicador, PMT, 179, 180-230, 250, 251, 252, 305, 394, 402, 472
- Tubo Geiger, para medidas de actividad beta, 885
- rayos X, 303, 304
- Tubos de rayos X, 299
- Turbidimetría, 147*t*
- Tyndall, efecto, 134
- Ultramicroelectrodos, 694, 723
- Unidad aritmético-lógica, ALU, del ordenador, 90
- Unidad central de procesamiento, CPU, 87, 90
- Unidad de cálculo en décadas, DCU, 83
- Unidad de control, del microprocesador, 90
- Unidad de masa atómica, uma, 270
- Unidades de visualización alfanuméricas, para instrumentos, 48, 51
- Unión de difusión libre (FDJ), del electrodo de vidrio, 666
- Unión de referencia del termopar, 187, 421
- Unión del transductor, del termopar, 187
- Unión Internacional de Química Pura y Aplicada, IUPAC, 619 (*véase también* IUPAC)
- Unión *pn* inversamente polarizada, 42, 191
- Unión *pn*, 41, 47
- Universo, de datos, 924
- Valinomicina, en el electrodo de membrana para potasio, 654
- Valoración
 - amperométrica, 706
 - culombimétrica, 680(*véase también* Valoraciones culombimétricas)
 - fotométrica, 372
 - inyección en flujo, 907
 - potenciométrica, 668
- Valoraciones ácido/base, culombimétrica, 685, 686*t*
- Valoraciones amperométricas, 706
- Valoraciones culombimétricas, 673, 680, 684-688
 - comparación con las volumetrías clásicas, 686
 - generación externa de reactivos para, 685
- Valoraciones de formación de complejos
 - amperométrica, 706
 - culombimétrica, 686, 687*t*
- Valoraciones de neutralización, culombimétrica, 685, 696*t*
- Valoraciones de oxidación/reducción amperométricas, 706
- culombimétricas, 686, 687*t*
- Valoraciones de precipitación amperométricas, 706
- culombimétricas, 686, 687*t*
- Valoraciones fotométricas, 372-374
- Valoraciones por inyección en flujo, 907
- Valoraciones potenciométricas, 90, 885
- Valorador culombimétrico, 684
- Válvula rotatoria de muestra, cromatografía en columna, 754, 762
- Van Deemter, ecuación de, 741
- Van Deemter, gráfica de, 740
- Vaporización electrotérmica, ETV, 201*t*, 202, 203
 - interferencias de la matriz con, 223
 - para espectroscopia atómica, 223-225
 - para espectroscopia de plasma de acoplamiento inductivo, 248
- Variación de energía libre, en las celdas electroquímicas, 615
- Varianza, σ^2 , 13
 - τ^2 , 739
 - como medida de la eficacia de la columna cromatográfica, 739 (*véase también* Eficacia de la columna)

- Varianza, σ^2 (*cont.*)
 como parámetro de calidad, 12*t*, 13
 de una señal, 112
 Varianza de la muestra, s^2 , 924
 Varianza de la población, σ^2 , 924
 Velocidad angular de precesión, ω_0 , 485
 Velocidad de bombeo, efecto sobre la dispersión, FIA, 904
 Velocidad de combustión, de llamas, 221
 Velocidad de la fase móvil, m , 735, 740, 743
 Velocidad de los iones, en un campo eléctrico, 845
 Velocidad de migración lineal del soluto, V , 735
 Velocidad de migración, v , iónica, 845, 847
 Velocidad de recuento, R , 880
 Velocidad de respuesta, del amplificador, 61
 Velocidad del monocromador, 171
 Velocidad lineal de la fase móvil, u , cromatografía en columna, 735, 740*t*, 741, 752*t*
 Velocidad lineal promedio, V , de migración del soluto, 735
 Velocidad, c , de la radiación electromagnética, 122, 123
 Velocidades de migración, cromatográficas, 733, 845
 y redisolución, 732, 745
 Ventaja de rendimiento, espectroscopia de transformada de Fourier, 193
 Ventaja multiplex, 195, 257
 Ventana de lectura, espectrómetro de inyección de carga, 253
 Ventana, del selector de alturas de impulso, 306
 Ventanas de cloruro de sodio, espectroscopia de absorción en el infrarrojo, 176
 Vibraciones de aleteo, molecular, 412
 Vibraciones de balanceo, molecular, 412
 Vibraciones de flexión, 412
 Vibraciones de respiración, molecular, 469, 476
 Vibraciones de tensión
 modelo mecánico de, 412
 molecular, 412, 456, 475
 Vibraciones de tijereteo, molecular, 412, 418
 Vibraciones de torsión, molecular, 412
 Vibraciones moleculares, 412, 414
 cambios dipolares en las, 411
 Vibraciones, moleculares, 415-419, 463, 466
 Vida media, $t_{1/2}$, 880
 Vidrio Corning 015, 646
 Vidrio, cubetas de, para espectroscopia de absorción, 176 (*véase también* Cubetas)
 Viscosidad
 de la fase móvil, HPLC, 804*t*
 de los fluidos supercríticos, 828, 832*t*
 Voltamperograma, 697, 701-703, 717
 Voltamperogramas anódico/catódicos, 702
 Voltamperometría, 691-725
 amperométrica, 706
 análisis por redisolución, 721-723
 cíclica, 708-710
 con electrodos sólidos, 698-701
 con microelectrodos, 724
 diferencial, 716
 hidrodinámica, 697-708
 onda cuadrada, 716
 Voltamperometría cíclica, CV, 708-710
 Voltamperometría de barrido lineal, 692 (*véase también* Polarografía)
 Voltamperometría hidrodinámica, 696-708
 Voltímetro, 26
 Voltímetro digital, DVM, 26
 Voltímetro electrónico, 661
 Volumen de la fase estacionaria, V_s , 752*t*
 Volumen de la fase móvil, V_m , 752*t*
 Volumen de la muestra, efecto sobre la dispersión, FIA, 904
 Volumen de retención específico, V_R , GLC, 760
 Volumen de retención, V_R , GLC, 760
 efecto sobre la resolución, 746
 y razón de distribución, 735
 Volumen intersticial, de una membrana microporosa
 sonda sensible a gases, 657
 Volúmenes de retención netos (V_R^0 , V_N^0), 760
 Voxel, 528
 Wehnelt, cilindro de, 588
 Yodo
 análisis por absorción para, 368
 efecto sobre la fluorescencia del, 387
 Yoduro, ion
 complejación con, 368
 electrodo de membrana sólida para el, 653*t*
z. valores de, 931
 Zip[®], disco, 92
 Zona de combustión primaria, de la llama, 220
 Zona de combustión secundaria, 221
 Zona de despoblación, en un diodo semiconductor, 41
 Zona interconal, de la llama, 220
 Zona intrínseca, detector semiconductor, 306
 Zonas cromatográficas, 731
 de llama, 220
 Zwitterion, 856